

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MIRELLE RIBEIRO ARAÚJO

**ALTERNATIVAS PARA O
CONTROLE DE DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM GRÃOS
E FRUTOS**

Palmas-TO

2019

MIRELLE RIBEIRO ARAÚJO

**ALTERNATIVAS PARA O
CONTROLE DE DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM GRÃOS
E FRUTOS**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Linha de pesquisa PPGCTA: Controle de qualidade e segurança alimentar.

Orientadora: Dr^a. Juliana Fonseca Moreira da Silva.

Coorientador: Dr. Raphael Sanzio Pimenta

Palmas-TO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- R484a Ribeiro Araújo, Mirelle.
 Alternativas para o controle de doenças pós-colheita em grãos e frutos. /
 Mirelle Ribeiro Araújo. – Palmas, TO, 2019.
 78 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
 – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
 Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2019.
 Orientadora : Juliana Fonseca Moreira da Silva
 Coorientador: Raphael Sanzio Pimenta
1. ALTERNATIVAS DE CONTROLE PARA REDUÇÃO DE
 MICOTOXINAS. 2. CONTROLE BIOLÓGICO DE AFLATOXINAS EM
 AMENDOIM. 3. MANCHA-BACTERIANA DA MANGUEIRA
 (XANTHOMONAS CAMPESTRIS PV. MANGIFERAINDICAE).
 ETIOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE. 4. ALTERNATIVE
 METHODS FOR ANGULAR STAIN CONTROL IN MANGOES
 (MANGIFERA INDICA L.). I. Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
 forma ou por qualquer meio deste documento é autorizada desde que citada a fonte.
 A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
 do Código Penal.

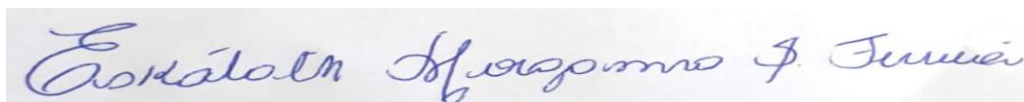
Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os
 dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MIRELLE RIBEIRO ARAÚJO

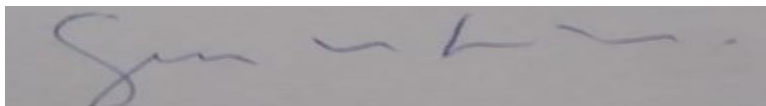
**ALTERNATIVAS PARA O
CONTROLE DE DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM GRÃOS
E FRUTOS**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 27 de agosto de 2019, pela Banca
Examinadora constituída pelos membros:



Prof.ª Dr.ª Eskálath Morganna Silva Ferreira

UFT



Prof. Dr. Guilherme Nobre L. do Nascimento

UFT



Profª. Drª. Juliana Fonseca Moreira da Silva Orientadora –

UFT

*A minha amada família por ter tido total compreensão
durantes esses dois anos, em especial ao meu PAI ZEZINHO
que hoje está na eternidade.*

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Etapa concluída, posso dizer que encontrei o que eu realmente procurava, aprendi a amar a pesquisa de uma forma inexplicável, muitas pessoas me ajudaram durante esse percurso.

Agradeço a Deus, Nossa Mãe Maria Santíssima e Santo Antonio, por ter me dado forças para superar todos os obstáculos e concretizar esse sonho.

A minha amada família por ter tido todo entendimento, carinho e zelo por mim. Muitas vezes afastada de muitas obrigações e vocês foram maravilhosos. Em especial meu esposo Francisco e minhas meninas Maria Luiza e Maria Julia, vocês foram inexplicáveis.

Juliana Fonseca, muito difícil explicar o que foi esses dois anos, você foi um anjo que caiu do céu, agradeço a Deus todos os dias por sua vida. Você como orientadora foi maravilhosa, obrigada por cada ensinamento, puxão de orelha, carinho, etc. E deixo meus agradecimentos também ao professor Raphael Pimenta, pelas orientações prestadas durante esse curso. Que Deus abençoe a família de vocês.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Estudos.

Não poderia deixar de agradecer aos Tops do LMGA, Morganna obrigada por tudo! Você me incentivou e ajudou nessa reta final. Geovankaaaaaa, minha princesa, obrigadaaaaaaa, você foi maravilhosa comigo, levarei pra sempre em meu coração. Raul, Wilson, Bia, Sarah, Tatiana, Michelle, Luiz e Adriana, nunca esquecerei nossas trocas de experiências, risadas e choros no nosso LMGA, cada momento foi maravilhoso. Obrigada de verdade!

Agradeço aos meus amigos e compadres (Joana e Leonardo), meus cunhados (Diego e Rayssa), por muitas vezes ficarem com minhas filhas pra poder estudar. Vocês fazem parte dessa vitória.

Agradeço aos meus amigos de caminhada de igreja, pela paciência e ausência muitas vezes nos encontros.

Muito obrigada!

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar métodos alternativos na conservação de grãos e frutos pós-colheita, a fim de garantir uma melhor qualidade dos produtos além de sua conservação prolongada. Grãos e frutos se não armazenados e transportados de uma forma correta tendem a entrar em deterioração rapidamente. Fungos e bactérias são os responsáveis por essas contaminações. As micotoxinas são substâncias produzidas por fungos as quais são tóxicas para os vertebrados e outros grupos de animais em baixas concentrações, são produzidas através do metabolismo secundário de cepas toxigênicas de fungos filamentosos. A podridão negra causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* afeta as características físicas e sensoriais do fruto, causando grandes perdas para o produtor. Foram verificadas que para o controle das micotoxinas e em específico as aflatoxinas, as abordagens químicas se mostraram mais eficazes ao controle, um exemplo a quitosana onde apresentou ter uma biocompatibilidade, maleabilidade, biodegradabilidade e perfil atóxico, onde confirma essa substância uma grande alternativa de utilização no controle de fungos aflatoxigênicos. Para o controle da *X. campestris*, foram realizados testes *in vitro*, utilizando leveduras do gênero *Saccharomyces* (com potencial probiótico), extratos etanólico de duas plantas nativas do cerrado e quatro substâncias GRAS no biocontrole da mancha-angular em manga e verificou que as leveduras não foram capazes de inibir o crescimento da fitobactéria, já os extratos das plantas e as substâncias GRAS testadas foram eficazes no controle da doença, demonstrando serem uma alternativa de controle desta fitobactéria, evitando assim perdas econômicas para o Brasil.

Palavras-chave: Micotoxinas, *Xanthomonas campestris*, GRAS, plantas.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate alternative methods to preserve the post-harvest of grains and fruits, to ensure a better quality of these products and to increase their shelf time. Grains and fruits normally decay very fast, if not kept or transported in the correct way. Fungi and bacteria are the responsible by these decays. The micotoxins are substances produced by fungi and are toxic to vertebrates and others groups of animals even at low concentrations, they are produced by the secondary metabolisms of toxigenic strains of filamentous fungi. It was verified that for the control of mycotoxins and in particular aflatoxins, the chemical approaches were more effective to control, an example to chitosan where it has a biocompatibility, malleability, biodegradability and non-toxic profile, which confirms this substance a great alternative for use. in the control of aflatoxigenic fungi. For the control of *X. campestris*, in vitro tests were performed using yeasts of the genus *Saccharomyces* (with probiotic potential), ethanolic extracts from two native plants of the cerrado and four GRAS substances in the angular leaf spot biocontrol in mango and verified that the yeasts They were not able to inhibit the growth of phyto**ba**cteria, while the plant extracts and GRAS substances tested were effective in controlling the disease, proving to be an alternative control of this phyto**ba**cteria, thus avoiding economic losses for Brazil.

Keywords: Mycotoxins, *Xanthomonas campestris*, GRAS, plants.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL	9
2. OBJETIVO	12
Geral	12
3. REFERÊNCIAS	13

Capítulo 1:

ALTERNATIVAS DE CONTROLE PARA REDUÇÃO DE MICOTOXINAS	16
---	-----------

Capítulo 2:

CONTROLE BIOLÓGICO DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM.....	36
---	-----------

Capítulo 3:

MANCHA-BACTERIANA DA MANGUEIRA (<i>XANTHOMONAS CAMPESTRIS</i> PV. <i>MANGIFERAEINDICAE</i>): ETIOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE.....	52
--	-----------

Capítulo 4:

ALTERNATIVE METHODS FOR ANGULAR STAIN CONTROL IN MANGOES (<i>MANGIFERA INDICA L.</i>).....	58
---	-----------

1. INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, as condições climáticas favorecem o desenvolvimento de fitopatógenos produtores de micotoxinas e deteriorantes de frutos. O monitoramento destes fitopatógenos em alimentos é de extrema importância para a saúde pública, visando à adoção de medidas biotecnológicas a fim de reduzir as perdas econômicas para o produtor.

O controle de doenças pós-colheita por fungos em grãos, legumes e outros produtos vegetais dependem da aplicação correta de técnicas que podem ser aplicadas antes e durante a colheita e também durante o armazenamento, como por exemplo, o monitoramento das condições ambientais (WIDSTROM et al., 2003; DORNER, 2004; AGRIOS, 2005).

Pesquisas realizadas no Brasil relatam variados índices de contaminação por diversas micotoxinas em diferentes tipos de alimentos, os grãos e cereais apresentam contaminação, como fumonisina em milho, desoxinivalenol em trigo, aflatoxinas em amendoins e ocratoxina A em arroz e trigo, os produtos de origem animal, como carne, ovos e leite, podem ser uma fonte indireta de contaminação por micotoxinas (PRADO, 2017).

Considerando os efeitos crônicos que as micotoxinas podem causar, a somatória das possíveis fontes de micotoxinas na dieta humana e de outros animais pode representar um grave risco à saúde (PRADO, 2017). O reconhecimento dos problemas causados pelas micotoxinas nos alimentos e rações é, sem dúvida, o primeiro passo para a implementação de programas que permitam a adoção de medidas apropriadas para a prevenção e a redução do problema. Tais programas devem incluir não apenas as medidas de prevenção de ocorrência de micotoxinas em commodities, mas, também, o uso de métodos para sua remoção ou descontaminação (DA SILVA et al., 2018).

Dentre as micotoxinas, merecem destaque pela sua frequência e toxicidade as aflatoxinas. As principais aflatoxinas são B1, B2, G1 e G2. As aflatoxinas podem ser produzidas por três espécies de fungos filamentosos: *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (SILVA et al., 2015; PRADO, 2017).

Estudos têm demonstrado a alta contaminação do amendoim por aflatoxinas, tem causado importantes perdas econômicas, principalmente no que se refere à exportação. Sendo assim, qualquer técnica que minimize a contaminação do amendoim por aflatoxinas, pode ser

considerada estratégica, tanto para a saúde pública quanto para a economia. As metodologias mais frequentemente utilizadas para a prevenção da produção de aflatoxinas se baseiam na utilização de cultivares mais resistentes ao fungo, aplicação de defensivos agrícolas e monitoramento das condições ambientais de estocagem, controle biológico e a utilização de substância “geralmente reconhecidas como seguras” GRAS (ARAUJO et al., 2018).

O Brasil está entre os maiores produtores e exportadores de manga a nível mundial. A manga é a segunda fruta mais exportada no país em termos de volume, e a primeira em termos de receita (SEBRAE, 2016). Os principais estados produtores de manga são: São Paulo, Bahia e Pernambuco, sendo a maior exportadora nacional, a região do Vale do São Francisco. A manga destaca-se como o fruto tropical mais popular do mundo, com recordes de produção de cerca de 30 milhões de toneladas (CHOON et al., 2018). Entre os milhares de cultivares de mangas produzidas em todo o mundo, as dominantes são Tommy Atkins, Palmer, Haden, Ataulfo, Kent, Keitt e Alphonso (LAWSON et al., 2019).

A mangueira é afetada por inúmeras doenças que proporcionam perdas expressivas da produção. Dentre as doenças que acometem a mangueira as mais relevantes são causadas por bactéria, como a mancha-angular (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferae* indicae) e as doenças causadas por fungos, como a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.), malformação da mangueira (*Fusarium subglutinans*) (TERAO et al., 2016).

Mancha bacteriana negra de manga também chamada de cancro bacteriano, foi observada na maioria dos países e regiões produtoras, esta doença não induz declínio nas árvores infectadas, mas leva a perdas substanciais de safra, altera a qualidade e diminui o valor de mercado (GAGNEVIN; PRUVOST, 2001).

As medidas de controle para essas doenças incluem procedimentos de quarentena, plantação de mudas sadias, uso de cultivares resistentes, quebra-ventos para impedir a dispersão do inóculo e uso de bactericidas, como compostos à base de cobre. Para o controle das micotoxinas, são utilizadas alternativas físicas, químicas e biológicas, os quais são capazes de reduzir a contaminação dessas micotoxinas. Estas medidas de controle têm eficácia limitada, com apenas alguns bactericidas disponíveis no mercado e a questão adicional de que os compostos de cobre são tóxicos, o que afeta o meio ambiente. (SPAGO et al., 2014).

Extratos de planta vêm sendo utilizados com agentes controladores de doenças, exemplo e o extrato etanólico da planta *Miconia albicans* e *Mauritia flexuosa* que foram utilizados frente à *Xanthomonas campestris*.

Outra abordagem que vem sendo explorada consiste no uso de substâncias GRAS, devido a seu mínimo impacto sobre o meio ambiente e os baixos resíduos no produto tratado. O *Food and Drug Administration* (FDA), órgão regulador dos Estados Unidos da América, organizou uma lista de produtos GRAS que podem ser utilizados em muitas aplicações nos alimentos (ZAMANI-ZADEH et al., 2014).

Todas as técnicas apresentadas demonstram efetiva redução da produção de micotoxinas e em destaque as aflatoxinas. O controle da *Xanthomonas campestris* foi eficaz quando utilizamos substâncias GRAS e extrato etanólico de plantas. Sendo assim, esta pesquisa tornou acessíveis métodos de controle eficientes e seguros que poderão preencher a lacuna existente entre a eficiência de métodos dispendiosos, como o controle das condições de estocagem, e tóxicos como a utilização de defensivos agrícolas, e ampliar as alternativas de controles disponíveis na atualidade sempre levando em consideração a sustentabilidade dos processos.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Propor alternativas para o controle de micotoxinas em grãos e o controle da *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae* em mangas. Para o controle das micotoxinas e em específico as aflatoxinas, foram realizadas abordagens físicas, químicas e biológicas.

Para o controle da *X. campestris*, foram realizados testes *in vitro*, utilizando leveduras do gênero *Saccharomyces* (com potencial probiótico), extratos etanólico de duas plantas nativas do cerrado (*Mauritia flexuosa* e *Miconia albicans*) e quatro substâncias GRAS (Bicarbonato de sódio, Carbonato de sódio, Carbonato de cálcio e Cloreto de potássio) no biocontrole da mancha-angular em manga.

3. REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. (5ª ED.). **Plant Pathol.** Califórnia. 2005. 1936p.

ALLENSPACH, N. & DIAS, M. Frugivory by birds on *Miconia albicans* (MELASTOMATACEAE), in a fragment of cerrado in São Carlos, southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 2, p. 407–413, 2012.

ARAÚJO, M. R.; LEÃO, G. M. A.; DA SILVA, J; F. M. Ciência e tecnologia de alimentos: conceitos e aplicações: Controle biológico de aflatoxinas em amendoim. 1ª. ed. Palmas, TO: **EDUFT**, 2019. v. 01, cap. 2, p. 43-58. ISBN 978-85-60487-73-8. Disponível em: <https://docs.uft.edu.br/share/s/jypyllPZTV-b35eq5477bw>. Acesso em: 6 ago. 2019.

ARITA, C.; CALADO, T.; VENÂNCIO, A.; LIMA, N.; RODRIGUES, P. Description of a strain from an atypical population of *Aspergillus parasiticus* that produces aflatoxins B only, and the impact of temperature on fungal growth and mycotoxin production. **European Journal of Plant Pathology**. 2014. 139: 655-661.

BRUM, L.E.B.; PRADA, A.; MEDEIROS, E. A. A.; AMARANTE, C.V.T. do. Temperatura, luminosidade e meio de cultura afetando a produção de esclerócios de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, n. 1, p. 1-7, 2002.

CARVALHO, J. O.; ORLANDA, J. F. F. Heat stability and effect of pH on enzyme activity of polyphenol oxidase in buriti (*Mauritia flexuosa* Linnaeus f.) fruit extract. **Food Chemistry**, 233, p.159-163,2017.

CHOON Y. CHEOK, C.Y.; ADZAHAN, N. M.; RAHMAN, R. A.; ABEDIN, N. H. Z.; HUSSAIN, H.; SULAIMAN R.; CHONG, G. H. Current trends of tropical fruit waste utilization. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. V.58, n.3, p. 335-361. 2018.

DA SILVA, D. D.; COTA, L. V.; DA COSTA, R. V. Importância das micotoxinas em sistemas produtivos de grãos. **Embrapa Milho e Sorgo-Capítulo em livro científico**. 2018

DORNER, J.W. Biological control of aflatoxin contamination of crops. **J. Toxicol.** v. 23, p.425-450, 2004.

STUCHI, E. S.; DONADIO, L. C.; SEMPIONATO, O. R.; Perecin, D.. Produtividade e qualidade dos frutos da laranja'Pêra'clone IAC em 16 porta-enxertos na região de Bebedouro-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 359-362. 2004.

FREIRE, F.; VIEIRA, I.; GUEDES, M.; MENDES, F. Micotoxinas - Importância na alimentação e na saúde humana e animal. Documentos 110. **Embrapa Agroindústria Tropical Fortaleza**, Brasil. 2007. (ISSN 1677-1915)

FURBINO, L.E., GODINHO, V.M., SANTIAGO, I.F., PELLIZARI, F.M., ALVES, T.M.A., ZANI, C.L., JUNIOR, P.A.S., ROMANHA, A.J., CARVALHO, A.G.O., GIL, L.H.V.G., ROSA, C.A., MINNIS, A.M., ROSA, L.H. Diversity Patterns, Ecology and Biological Activities of Fungal Communities Associated with the Endemic Macroalgae Across the Antarctic Peninsula. *Microbial Ecology*. v. 67, p. 775-787, 2014.

GAGNEVIN, Lionel; PRUVOST, Olivier. Epidemiology and control of mango bacterial black spot. *Plant disease*, v. 85, n. 9, p. 928-935, 2001.

LAWSON, T.; LYCETT, G.W.; ALI, A.; CHIN, C.F. Characterization of Southeast Asia mangoes (*Mangifera indica*L) according to their physicochemical attributes. *Scientia Horticulturae*, v.243, p.189–196, 2019.

MILANEZ, J. T. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at different ripening stages. *Scientia Horticulturae*, 227, p.10-21, 2018.

OLIVEIRA, D.M.S.; LUCENA, E.M.P. O uso de plantas medicinais por moradores de Quixadá–Ceará. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v.17, n.3, p.407-412, 2015.

PACHECO, K. R. Avaliação de Trichoderma e de fosfito no controle de Sclerotium rolfsii agente da murcha-deesclerócio em feijoeiro. Brasília, 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado) **Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**, Universidade de Brasília, 2012.

PRADO, Guilherme. Contaminação de alimentos por micotoxinas no Brasil e no mundo. Gerais: *Revista de Saúde Pública do SUS/MG*, v. 2, n. 2, p. 13-26, 2017.

REIS, C.; BIERAS, A.C.; SAJO, M.G. Anatomia foliar de Melastomataceae do cerrado do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 28, n.3, 2005.

SEBRAE. Fruticultura – **Cenários e projeções estratégicas**. 30p., 2016. Disponível em <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1098296>

SILVA, F.C.; CHALFOUN, S.M.; BATISTA, L.R.; SANTOS, C.; LIMA, N.; Taxonomia Polifásica para Identificação de *Aspergillus* seção *Flavus*: Uma Revisão. **Revista IFES Ciência**, v.1, n. 1, p. 18-40, 2015

SIVAKUMAR, D.; JIANG, Y.; YAHIA, E.M. Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain. **Food Res. Int.** v. 44, n. 1254–1263, 2011.

SPAGO, F.R.; ISHII MAURO, C.S.; OLIVEIRA, A.G.; BERANGER, J.P.O.; CELY, M.V.T.; STANGANELLI, M.M.; SIMIONATO, A.S.; MELLO, J.C.P.; ANDRADE, G. *Pseudomonas aeruginosa* produces secondary metabolites that have biological activity against plant pathogenic *Xanthomonas* species. **Crop Protection**. v. 62, p. 46-54, 2014

WALL-MEDRANO, A.; OLIVAS-AGUIRRE, F. J.; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R.; GONZÁLEZ-AGUILAR, A.; LA ROSA, L. A. J.; LÓPEZ-DÍAZ, A.; ÁLVAREZPARRILLA, E. El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. **Nutrición Hospitalaria**, v. 3, n. 1, p. 67-75, 2015.

TERAO, D.; BATISTA, D. C.; RIBEIRO, I. J. A. Doenças da mangueira. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Piracicaba: Ceres, 2016. v.2 Cap. 54, p. 523-533, 2016.

WIDSTROM, N.W.; BUTRON, B.Z.; WILSON, D.M.; SNOOK, M.E.; CLEVELAND, T.E.; LYNCH, R.E. Control of pre-harvest aflatoxin contamination in maize by pyramiding QTL involved in resistance to earfeeding insects and invasion by *Aspergillus* spp. **Europ. J. Agron.**, v. 19, p. 563- 572, 2003.

VECCHIA A.D.; CASTILHOS-FORTES R. Contaminação fúngica em granola comercial. **Ciênc Tecnol Aliment**. 2007; 27(2): 324-7.

ZAMANI-ZADEH, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S.; SHEIKH-ZEINODDIN, M.; GOLI, S. A. H.. Integration of *Lactobacillus plantarum* A7 with thyme and cumin essential oils as a potential biocontrol tool for gray mold rot on strawberry fruit. **Postharvest biology and technology**, 92, 149-156. 2014.

Capítulo 1

ALTERNATIVAS DE CONTROLE PARA REDUÇÃO DA PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS

Artigo a ser submetido na revista ISSN: 1947-6345 CYTA: JOURNAL OF
FOOD (ONLINE) - Qualis B1

ALTERNATIVAS DE CONTROLE PARA REDUÇÃO DA PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS

Mirelle Ribeiro Araújo¹ Michelle Marinho dos Santos Mineli¹ Raphael Sanzio Pimenta¹

Juliana Fonseca Moreira da Silva¹

¹ Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins, Brasil. E-mail: julianafmsilva@uft.edu.br

INTRODUÇÃO

As micotoxinas são substâncias produzidas por fungos as quais são tóxicas para os vertebrados e outros grupos de animais em baixas concentrações. São produzidas através do metabolismo secundário de cepas toxigênicas de fungos filamentosos e até o momento não possuem significância bioquímica estabelecida (ZAIN, 2011). Estão presentes frequentemente contaminando cereais, amendoim, leite e produtos lácteos, café, vinho, cerveja, sementes de algodão, frutas frescas e secas, legumes e nozes (PASCARI et al., 2018). Isso ocorre principalmente as más condições de armazenagem, segundo Elias (2003) a armazenagem é o processo de guardar o produto, associada a uma sequência de operações, tais como limpeza, secagem, tratamento fitossanitário, transporte, classificação, dentre outros, com o intuito de preservar as qualidades físicas e químicas da colheita, até o abastecimento, caso não se tenha essas boas práticas facilita o desenvolvimento dos microrganismos nos alimentos (WIELOGÓRSKA et al., 2016; BENTO et al., 2012).

Essas substâncias possuem baixo peso molecular e são estáveis a altas temperaturas e a baixos valores de pH, o que dificulta sua remoção dos alimentos. As micotoxinas são um grupo estruturalmente diversificado e variam de compostos simples a substâncias muito complexas. Uma cepa fúngica pode ser capaz de produzir diferentes tipos de micotoxinas e diferentes espécies de fungos podem produzir a mesma micotoxina. No entanto, existem algumas condições predisponentes para a produção de micotoxinas em alimentos, como a má colheita, transporte e práticas de armazenamento inadequadas, como altas temperaturas e umidade de armazenamento (DARWISH et al., 2014).

Atualmente, muitas micotoxinas já são reconhecidas tais como (aflatoxinas, fumonisinas, tricoteceno, zearalenona, pitrinina, patulina, ocratoxina A, dentre outras), e representam milhões de dólares anualmente em perdas em todo o mundo em saúde humana e animal, e produtos agrícolas condenados (SHANE, 1994; VASANTHI; BHAT, 1998).

O impacto econômico das micotoxinas inclui a perda de vidas humanas, cuidados de saúde e custos de cuidados veterinários, perda de produção de gado, perda de forragens e alimentos, custos regulatórios e custos de pesquisa focados em aliviar o impacto e a gravidade do problema das micotoxinas. Cerca de 30% de todos os alimentos produzidos no mundo têm alguma contaminação por micotoxinas (HUSSEIN; BRASEL, 2001).

A intoxicação ocasionada especialmente pela ingestão de micotoxinas é denominada micotoxicose. A micotoxicose pode ser categorizada como aguda ou crônica. A toxicidade aguda geralmente tem um início rápido e uma resposta tóxica óbvia, enquanto a toxicidade crônica é caracterizada pela exposição a baixas doses por um longo período de tempo. As micotoxicoses são um problema mundial devido à sua alta incidência e níveis de ocorrência na alimentação humana e animal (DUARTE-VOGEL; VILLAMIL-JIMÉNEZ, 2006; ZAIN, 2011; PFLIEGLER et al., 2015). A *Food and Agriculture Organization* (FAO) estimou que cerca de 25% dos alimentos e rações para animais estão contaminados com micotoxinas (PATIL, et al., 2014; CAST, 2003; PIMENTA et al., 2009).

As aflatoxinas são um tipo de micotoxinas bastante conhecida, são derivadas de algumas estirpes de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, presentes em muitas culturas agrícolas. Os fungos produtores de aflatoxinas são majoritariamente encontrados em climas quentes e temperaturas altas, onde as temperaturas variam entre os 24°C e os 35°C (DE RUYCK et al., 2015).

As aflatoxinas podem estar presentes em diversos alimentos incluindo amendoins, frutos com casca grossa, frutos secos e cereais (em particular milho) e especiarias. Alguns dos alimentos referidos são muito utilizados na preparação de produtos destinados à alimentação infantil (por exemplo, cereais e frutos). Além disso, esta micotoxina é também muito estável, o que lhe confere elevada resistência aos métodos de processamento por aquecimento, sendo assim também consideradas como toxina de risco em alimentos processados (MARIN et al., 2013).

As Aflatoxicoses são doenças causadas pelo consumo de aflatoxinas. De maneira semelhante, na saúde pública, as aflatoxinas são as principais responsáveis pela origem de câncer hepático no homem, consequência da ingestão contínua de alimentos contaminados (OLIVEIRA; GERMANO, 1997). A aflatoxicose aguda pode causar morte; seu quadro se inicia após 6 horas da ingestão da micotoxina e seus sintomas incluem apatia, presença de sangue nas fezes, tremores musculares, hipertermia (até 41°C), e a aflatoxicose crônica

desencadeia alterações patológicas mais prolongadas, como o câncer e imunossupressão. Muitas vezes a aflatoxicose aguda se manifesta como hepatite aguda, pois o principal órgão afetado pela aflatoxina B1 é o fígado (MURRAY; et al., 2006).

É praticamente impossível evitar a contaminação dos alimentos pelas micotoxinas; portanto, elas devem ser rigorosamente monitoradas em alimentos de origem animal e vegetal (AMELIN et al., 2013). A aflatoxina B1 e a ocratoxina A (OTA) ocorrem com maior frequência e são de alta toxicidade (GUPTA et al., 2017). Neste capítulo, vamos nos concentrar na utilização de alternativas para controlar as micotoxinas em grãos.

ALTERNATIVAS DE CONTROLE

Contribuição biológica

Tradicionalmente, o controle de micotoxinas pode ser realizado no pré e pós-colheita. Dentre as estratégias que podem ser utilizadas para controlar fungos aflatoxigênicos ou pelo menos para controlar a produção de aflatoxinas, a prevenção é a mais interessante, principalmente devido ao seu baixo custo e à sua praticidade de implantação (PRADO et al., 2011). Esta prevenção pode ser estabelecida por diferentes estratégias como: uso de cultivares resistentes de plantas, cuidados na colheita, transporte e armazenagem, proteção contra insetos e controle ambiental, especialmente controle da temperatura, atmosfera e umidade. Outros tipos de controle seria a utilização de substâncias químicas e o uso de controle biológico.

O controle biológico de fungos aflatoxigênicos é uma estratégia muito promissora e já demonstra alto potencial no controle da produção de aflatoxinas em alimentos (DARWISH et al. 2014; PIMENTA et al., 2008). Consiste na redução de uma população-alvo (patógenos, parasitas, competidores, vetores, etc.) por outra população ou comunidade. Muitas pesquisas demonstraram que alguns microrganismos como fungos e leveduras podem controlar o crescimento e a produção de aflatoxinas em *Aspergillus* sp. (PERSONS et al., 2013; PRADO et al., 2011; PATIL et al., 2014; BHATNAGAR-MATHUR et al., 2015). Normalmente, o controle biológico de fungos aflatoxigênicos foi realizado com a aplicação de cepas não toxigênicas de *A. flavus* e/ou *A. parasiticus* no campo em pré-colheita ou utilização de leveduras e bactérias na pós-colheita e durante armazenamento (BHATNAGAR-MATHUR, et al., 2015; PIMENTA, et al., 2010).

No entanto, esta estratégia possui algumas limitações, devido a possibilidades de uma instabilidade genética, onde o fungo pode se tornar aflatoxigênico onde ocorre a conversão da linhagem não aflatoxigênica para aflatoxigênica e devido ao fato da cepa antagonista ainda ser um forte patógeno que pode reduzir o valor das sementes por colonização e produção de lesões nos substratos (OLARTE et al., 2010).

Muitas espécies de bactérias e fungos, como *Flavobacterium aurantiacum*, *Corynebacterium rubrum*, *Candida lipolitica*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Armillariella tabescens*, *Nurospora* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., dentre outras demonstraram degradar enzimaticamente as micotoxinas (BATA; LASZTITY, 1999; CIEGLER et al., 1966). No entanto, permanece a questão da toxicidade de produtos de degradação enzimática e efeitos indesejados de fermentação com microrganismos não-nativos na qualidade do alimento.

Uso de microrganismos probióticos

O termo probiótico é derivado do grego, que significa “para a vida”. A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) afirmaram que há evidência científica adequada com o objetivo de indicar que há potencial para alimentos probióticos afim de fornecer benefícios para a saúde e que as cepas específicas são seguras para uso humano (FDA, 2001; REID 2003).

Certas cepas de Bifidobactérias, bactérias produtoras de ácido láctico e Propionibacteria têm estruturas de parede celular que podem ligar as micotoxinas (YOON; BAECK, 1999; NEMAZI et al., 1998) e limitam sua biodisponibilidade no corpo. As cepas bacterianas como *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus* foram encontradas ser altamente eficaz contra OTA e patulina, respectivamente (FUCHS et al., 2008).

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas utilizando as bactérias ácido-láticas (BAL), estas são caracterizadas como produtoras de ácido láctico, gram-positivas, não-esporogênicas, e negativas para catalase e oxidase (ONILUDE et al. 2005). O uso dessas bactérias como agente antibacteriano e antifúngico também é avaliado para substituir métodos físicos e químicos, que alteram a qualidade e características de alimentos, sendo eficazes no controle de toxinas (GOURAMA; BULLERMAN, 1995; MAGNUSSON et al., 2003). Dentre os contaminantes, cujos riscos de exposição podem ser minimizados pela ação das BAL, está as micotoxinas, com destaque para as aflatoxinas que são as principais micotoxinas encontradas em cereais,

amendoim, leite e produtos lácteos, café, vinho, cerveja, sementes de algodão, frutas frescas e secas, legumes e nozes (EL KHOURY et al., 2011; PIERIDES et al., 2000; SARIMEHMETOGLU; KÜPLÜLÜ, 2004).

As bactérias lácticas probióticas tem sido uma das formas de controle de aflatoxinas por métodos biológicos mais utilizados, como confirmam os estudos desenvolvidos por (FUCHS et al., 2008; FAZELI et al., 2009; BOVO et al., 2010; DALIÉ et al., 2010; GRANATO et al. 2010; EL-KHOURY et al., 2011; GERBALDO et al. 2012; SERRANO-NINO et al., 2013; ANNUZIATA; VECCHIO, 2013), que comprovam que o recurso a estas cepas probióticas removem e/ou inativam as formas de aflatoxinas (M1 e B1) impedindo a sua adsorção pelas células intestinais do consumidor.

Leveduras para o controle de Aflatoxinas

Tradicionalmente, o controle biológico pós-colheita, faz uso de leveduras que são o organismo mais utilizados devido possuírem várias características intrínsecas, capacidade de rápida colonização e sobrevivência em superfície vegetal por um longo período de tempo e em diferentes condições ambientais, raramente produz substâncias químicas antagonistas e são menos afetadas por pesticidas, isso as torna um bom candidato para o desenvolvimento de protocolos de controle biológico (DROBY et al., 1999, 2003; PIMENTA et al., 2009).

O controle de micotoxinas utilizando microrganismos é uma das estratégias bem conhecidas para o manejo de micotoxinas em alimentos e rações. Entre os diferentes potenciais microrganismos descontaminantes, *Saccharomyces cerevisiae* e *S. boulardii* são espécies interessantes, devido à sua utilização anterior em rações e produtos alimentícios (SILVA et al., 2015; SHETTY; JESPERSEN, 2006).

As espécies de leveduras podem ser definidas como generalistas ou especialistas, dependendo de sua ocupação de habitat e perfis fisiológicos. Levedura generalista tem a capacidade de utilizar diversos compostos de carbono e podem sobreviver e crescer em diferentes ambientes. As leveduras especializadas têm um perfil fisiológico simples e obtêm energia apenas a partir de poucos compostos de carbono e essa limitação restringe sua amplitude de habitat, contudo, permite um crescimento mais rápido. (MORAIS et al., 1995; ABRANCHES et al., 2000; ROSA; PÉTER, 2006).

Muitas espécies de leveduras, como *Aureobasidium pullulans*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces spp.*, *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, *Saccharomycopsis spp.*, *Saccharomyces cerevisiae* e *S. boulardii*, foram testadas quanto à capacidade de suprimir o crescimento micológico e limitar a produção de micotoxinas em alimentos como uvas, grãos de café, cereais, amendoim e laticínios (PERSONS et al., 2013).

Persons et al, (2013) observaram que *A. flavus* e *A. parasiticus* foram inibidos por *S. cerevisiae* em diferentes temperaturas, mas como a concentração de levedura diminuiu, os efeitos inibitórios foram diminuídos. Das seis concentrações de levedura testadas em três regimes de temperatura a *S. cerevisiae* foi mais efetiva na inibição do crescimento de *A. flavus* e *A. parasiticus* nas menores diluições e na menor temperatura.

Prado et al. (2011) relacionaram as capacidades de *S. cerevisiae* para reduzir a concentração de aflatoxinas em grãos de amendoim. Os autores observaram que a inibição das aflatoxinas, foi resultado de um mecanismo do tipo *quorum sensins*, uma vez que a concentração de células fúngicas (levedura mais fungos filamentosos) influenciou a produção de aflatoxina no substrato. Muitos autores afirmam que um mecanismo que pode explicar a redução da aflatoxina pelo agente de biocontrole (levedura antagonista) é a ligação entre a toxina / parede celular. No entanto, as metodologias para avaliar a concentração de aflatoxinas nos experimentos utilizam diferentes substâncias e processos para extrair as aflatoxinas dos substratos, inclusive da parede celular da levedura. No entanto, o mecanismo exato pelo qual a levedura limita a produção de aflatoxinas por *Aspergillus* ainda é pouco conhecido.

Outros métodos de controle de micotoxinas

Diversas abordagens foram desenvolvidas para a descontaminação de micotoxinas em alimentos. Embora muitas abordagens estejam disponíveis para a descontaminação, a maioria delas não está amplamente disponível devido ao alto custo ou às dificuldades práticas envolvidas no processo de desintoxicação (ALIABADI, et al., 2013; SHETTY et al., 2006).

Grandes esforços têm sido feitos para descontaminar alimentos pelo uso de adsorventes físicos e químicos, porém o sucesso obtido até agora é limitado (PATIL, et al., 2014; SHETTY; JESPERSEN, 2006).

O processo de descontaminação deve 1) inativar, destruir ou remover a micotoxina; (2) não resultar na deposição de substâncias, metabólitos ou subprodutos tóxicos nos alimentos ou rações; (3) reter valor nutricional e capacidade de alimentação do produto ou mercadoria; (4) não resultar em alterações significativas das propriedades tecnológicas do produto; (5) destruir esporos de fungos. Além desses critérios, os processos deverão estar prontamente disponível, ser facilmente utilizado e barato. As estratégias envolvem métodos principalmente na fase pós colheita e são utilizados, métodos físicos, químicos e biológicos para inativar, destruir ou remover as micotoxinas (GALVANO et al., 2001; PATIL et al., 2014).

Métodos Físicos

Separação mecânica: os níveis de toxinas diminuem à medida que o produto limpo e fisicamente separado dos grãos contaminados, a separação é feita da forma eletrônica ou manualmente.

Processamento de alimentos: A maioria das micotoxinas é estável à temperatura ambiente. Processamento de alimento é importante para diminuir a concentração inicial de micotoxinas. Alguns exemplos de processamento: Moagem úmida, maltagem na fabricação de cerveja, cozimento e secagem na produção de óleo, são métodos para reduzir as micotoxinas. Estudos afirmam que a autoclavagem a 132°C por 5 horas reduz a concentração de ocratoxina em 85% (MADSEN et al., 1983).

Separação de densidade: A segregação de grãos contaminados e sementes oleaginosas envolve a classificação e delineamento de grãos bons versus contaminados por flutuação. Este método pode diminuir notavelmente várias concentrações de micotoxinas em grãos contaminados.

Etapa de lavagem: consiste na utilização de água para a remoção das camadas externas do pericarpo dos grãos antes do processamento de cereais, resultando em uma queda de 50% na concentração de ocratoxina.

Irradiação: A irradiação gama ou eletrônica é altamente eficaz para destruir os esporos dos fungos. Os raios fluorescentes ou ultravioletas (UV) decompõem as aflatoxinas e ocratoxinas. A aplicação de luz UV por 20 minutos a 25 ° C na presença de peróxido (0,05%) diminuiu a concentração de aflatoxina M1 no leite contaminado. A exposição simples de grãos

contaminados à luz solar (UV) reduz substancialmente os níveis de micotoxinas (PATIL et al, 2014).

Carvão ativado: Geralmente a absorção das propriedades do carvão ativado (AC) é estritamente dependente dos materiais de origem e dos parâmetros físicos, como área de superfície. *In vitro*, tem alta capacidade de ligação com várias micotoxinas. A propriedade de adsorção do CA foi encontrado eficaz contra a aflatoxina B1 e ocratoxina A até 95% e 91%, respectivamente, durante estudos *in vitro* realizados por (GALVANO et al., 2001).

Químicos

Agentes antifúngicos: Agentes antimicóticos como ácido sórbico e sorbato; ácido propiônico e propionato, ácido benzóico, benzoatos e parabenos; e o ácido acético e seus derivados são os produtos químicos que impedem o crescimento de fungos e interferem na produção de micotoxinas. 1% de ácido propiônico inibe a produção micotoxigênica de *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* e *P. viridicatum* e de micotoxinas em milho armazenado (VANDEGRAFT et al., 1975). Na silagem, a incorporação de 0,2% de sorbato de potássio, 0,7% de metil parabeno e 0,2% de propionato de sódio inibiu completamente o crescimento de fungos (TONG; DRAUGHON, 1985). A fosfina foi eficaz na inibição do crescimento de fungos e produção de toxinas. O sorbato de potássio foi muito eficaz e inibiu completamente a produção de aflatoxina e ocratoxina nos níveis 0,1 a 0,2% e 0,10 a 0,15%, respectivamente. Ervas e especiarias como cravo, óleo de canela, mostarda, pimenta da Jamaica, alho e orégano mostraram ter fortes propriedades antimicóticas (BULLERMAN et al., 1977). Baixa concentração de oxigênio (<1%) e / ou concentrações aumentadas de outros gases (por exemplo, 90% CO₂) diminuem o crescimento de fungos e a formação de micotoxinas.

Ozonização: Ozônio (O₃) gás, um poderoso oxidante é um químico não persistente, o que significa que se decompõe muito rápido. Dentro de 20 minutos, metade do o ozônio é decomposto em oxigênio (em meio ambiente aquoso). Vários estudos indicam que o ozônio degrada aflatoxinas em milho e farelo de algodão e também degrada as micotoxinas desoxinivalenol e a moniliformina (PATIL et al., 2014).

Hidróxido de sódio: aquecimento de grãos a 105°C na presença de 0,5% de hidróxido de sódio desintoxicando vários micotoxinas no alimento (PATIL et al., 2014).

Degradação estrutural: numerosos produtos químicos incluindo ácidos, bases, aldeídos, bissulfitos, oxidantes agentes e vários gases foram testados para sua capacidade de

degradar ou desintoxicar AFB1 e outros micotoxinas. Embora a maioria deles possa destruir as micotoxinas. Não devem ser utilizados devido à geração de produtos tóxicos e à alteração de qualidade do produto (PATIL et al., 2014).

Colestiramina: estudos indicaram que colestiramina (CHA), uma resina de permuta iônica com forte afinidade pelos sais biliares, foi encontrado contra a nefrotoxicidade induzida por OTA em ratos. CHA adicionado à dieta (5%) reduziu a concentração de OTA no plasma (até 50%) e aumentou a eliminação através das fezes, diminuindo a quantidade excretada na bile e na urina (KERKADI et al., 1998). Isto foi encontrado para ser um absorvente eficaz de OTA no trato gastrointestinal de ruminantes (MADYASTHA et al., 1992).

Silicato de aluminossilicato de sódio hidratado (HSCAS): Superfície molecular do HSCAS fica saturada com água e atrai a estrutura polar de várias micotoxinas (SANTIN et al., 2002; GIRISH; DEVEGOWDA, 2006). Em frangos jovens de corte, HSCAS (0,5%) foi eficaz em reduzir a toxicidade da aflatoxina (HARVEY et al., 1993; ABO-NORAG et al., 1995), bem como toxicidade combinada com OTA (HUFF et al., 1974). Níveis de anticorpos contra a Doença de Newcastle e a Bursal Infecciosa A doença também diminuiu em frangos com HSCAS suplementação à dieta contendo aflatoxina (500 ppb). No entanto, suas propriedades protetoras são muito baixas para OTA, zearelenona para tricotecenos.

Polivinilpolipirrolidona: Polivinilpolipirrolidona, um resina sintética, a 0,4g / kg pode se ligar a 50g / kg de AFB1 na alimentação. Melhora parcial foi relatada contra a AFB1, quando administrada com bentonita em frangos de corte (KECECI et al., 1998).

Aspartame: Aspartame (L-aspartil-L-fenilalanina éster metílico), um análogo estrutural da OTA e fenilalanina, foi demonstrado que tem efeito contra a citotoxicidade induzida pela OTA em animais (CREPPY et al., 1998). O aspartame impede efeitos citotóxicos da OTA, incluindo a inibição da síntese protéica, peroxidação lipídica e vazamento de certas enzimas, como a lactato desidrogenase, gama glutamil transferase e fosfatase alcalina (Baudrimont et al., 1997 a, b).

Proteínas brutas: elevando os níveis de proteína da dieta de 14-18% a 22-26% contra os efeitos da OTA (GIBSON et al., 1989). Os frangos de corte alimentados com dieta contendo 5 ppm de aflatoxina, aumentando a proteína de 20 a 30% aliviaram o crescimento e efeitos depressivos da aflatoxina (SMITH et al., 1971).

Algumas proteína protegem contra os efeitos negativos da OTA (BAILEY et al., 1989) presumivelmente devido ao aumento da concentração de fenilalanina na dieta de frangos. Aumentando a proteína bruta da dieta ajuda a aliviar, mas não eliminar os efeitos adversos da ocratoxina A. No entanto, aumentar os níveis de proteína é uma abordagem de alto custo para o controle de micotoxinas.

Lipídios dietéticos: Inclusão de óleo de algodão a 2, 6 ou de 16% em dietas semi-purificadas contendo 10 ppm aflatoxina, não só melhorou o peso corporal dos frangos, mas também a mortalidade que foi significativamente reduzida (SMITH et al., 1971).

LANZA et al. em 1981, avaliou o efeito de uma variedade de lipídeos (azeite, óleo de coco, óleo de cártamo e gordura animal) nas concentrações de 2 e 16% em dietas contendo 10 ppm de aflatoxina e observaram uma redução da mortalidade e, em alguns casos, uma melhora no pesos corporais dos frangos.

Os lipídios exerceram seus efeitos em parte, interferindo com a absorção da aflatoxina. A suplementação com azeite e óleo de cártamo (fontes de ácidos graxos insaturados), também melhorou o peso que sugere que dietas contendo maior os níveis de ácido linoléico melhoraram a conversão alimentar e menor mortalidade em frangos alimentados com dietas com aflatoxina (LANZA et al., 1981).

Substâncias antioxidantes

Os antioxidantes possuem propriedades protetoras devido à sua capacidade de agir como ânion superóxido catalizadores, protegendo assim as membranas celulares ao dano induzido por micotoxinas (PATIL et al., 2014).

Ácido ascórbico (Vitamina C): tem sido usado por reagir diretamente com superóxido, hidroxila oxigênio radical e singlet, além de dirigir supressão do radical livre reativo. A adição de vitamina C à dieta contendo OTA, parcialmente pode proteger contra o efeito tóxico (HAAZELE et al., 1993).

Compostos fenólicos: Os antioxidantes fenólicos, gálicos ácido, ácido vanílico, ácido protocatecuico, 4-ácido hidroxibenzóico, catequina, ácido cafeico e ácido clorogênico foram eficazes contra o crescimento fúngico de *Aspergillus* sp. produtores de ocratoxiana (PALUMBO et al., 2007). Além disso, vários compostos antioxidantes foram capazes de inibir a biossíntese de aflatoxina (REVERBERI et al., 2006).

Vitamina A: A vitamina A possui propriedades antioxidante contra os danos induzidos por micotoxinas. Carotenóides, principalmente carotenos e xantofilas presentes em cenouras, óleo de palma e milho, possuem propriedades antioxidante, antimutagênicas e anticarcinogênicas e reduzem a toxicidade da OTA (HAAZELE et al., 1993) .

Considerações finais

Quando ocorre a contaminação por fungos, o controle geralmente é feito com a aplicação de fungicidas, como os propiconazole-Notox S/A, Abacus-Basf, cyproconazole-Syngenta, tebuconazol- Agrialliance e Amistar- Syngenta, dentre outros, no entanto as abordagens químicas são consideradas as mais eficazes ao controle dos fungos produtores de micotoxinas.

O controle das micotoxinas na agricultura é de extrema importância para a saúde pública, pois se deve estar sempre atento aos seus perigos e as formas de manejo, além de buscar novas alternativas de controle como: controles químicos, físicos e biológicos. Todavia, esses esforços contínuos são impedidos por limitações nestas áreas, como a escassez de financiamento de pesquisa e tecnologia em muitos institutos e universidades que poderiam facilitar esse controle em vários países.

REFERÊNCIAS

- ABO-NORAG, M.; EDRINGTON, T. S.; KUBENA, L. F.; Harvey RB and Phillips TD. Influence of a hydrated sodium calcium aluminosilicate and virginiamycin on aflatoxicosis in broiler chicks. **Poultry Science**, 74: 626-632. 1995.
- ABRANCHES, J.; VITAL, M. J. S.; STARMER, W. T.; MENDONÇA-HAGLER, L. C.; A. N. HAGLER. The yeast community and mycotoxin producers of guava fruit in Rio de Janeiro, Brazil. **Mycologia**, 92: 16-22. 2000.
- ALIABADI, M. A; ALIKHANI, F. E; MOHAMMADI, M.; DARSANAKI, R. K. Biological Control of Aflatoxins. **European Journal of Experimental Biology**, 3(2):162-166. 2013.

AMELIN, V. G.; KARASEVA, N. M.; TRETYAKOV, A. V. Simultaneous Determination of Trichothecene Micotoxins, Ochratoxin A, and Zearalenone in Grain and Products of Its Processing, Feed Premixes, and Meat by Gas Chromatography. **Journal of Analytical Chemistry**. Vol. 68, No. 1, pp. 61–67. 2013.

ANNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. **Food Quality and Preference**, v. 28, p. 348-355, 2013.

BAILEY, C. A.; GIBSON, R. M.; KUBENA, L. F.; HUFF, W. F.; HARVEY, R. B. Ochratoxin A and dietary protein. 2. Effects on hematology and various clinical chemistry measurements. **Poultry Science**, 68: 1664- 1671. 1989.

BATA, A.; LASZTITY, R. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by micro-organisms. **Trends Food Sci. Technol.** 10:223-228. 1999.

BAUDRIMONT, L.; BETBEDER, A. M.; CREPPY, E. E. Reduction of the OTA induced toxicity in vero cells by aspartame. **Archives of Toxicology**, 71: 290-299. 1997.

BENTO, L. F.; CANEPPELE, M. A. B.; ALBURQUEQUE, M. C. F.; KOBAYASTI, L.; CANEPPELE, C.; ANDRADE, P. J. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 18, 44-49. 2012.

BHATNAGAR-MATHUR, P.; SOWMINI, S.; MADHURIMA, B., FARID, W.; KIRAN, K. S. Biotechnological advances for combating *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in crops, **Plant Science**, Vol. 234, Pages 119-132. 2015.

BOVO, F.; CORASSIN, C. H.; KOBASHIGAWA, E.; ROSIM, R. E.; OLIVEIRA, C. A. F. Eficiência de Bactérias Ácido-Láticas para Descontaminação de Aflatoxina M1 em Solução Tampão Fosfato, **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, [S. I.], v. 13, n. 3, p. 151-156, 2011.

BULLERMAN, L.B.; LIEU, F.Y.; SEIER, S. A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal of Food Science**, 42: 1107-1108. 1977.

CAST. Council for Agricultural Science and Technology. Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems, **Task Force Report n °139**, Ames, USA. 2003.

CIEGLER, A.; LILLEHOJ, E. B.; PETERSON, R. E.; HALL, H. H. Microbial detoxification of Aflatoxin. *Appl. Microbiol.* 14:934 -939. 1966.

CREPPY, E.E.; SCHLEGEL, M.; RÖSCHENTHALER, R.; DIRHEIMER, G. Phenylalanine prevents acute poisoning by ochratoxin A in mice. **Toxicology Letters**, 6: 77-80. 1980.

DALIÉ, D.K.D.; DESCHAMPS, A.M.; FORGET, F.R. Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: review. **Food Control**, v. 21, p. 2-8, 2010.

DARWISH, M.; ABDULRAHIM, H.; MOHIELDEEN, Y. Desalination and Water Treatment. **Qatar and GCC water security**. Vol. 55. 1-24. 10.1080/19443994.2014.947782. 2014.

DE RUYCK, K.; DE BOEVRE, M.; HUYBRECHTS, I.; DE SAEGER, S. Dietary mycotoxins, co-exposure, and carcinogenesis in humans: Short review. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**. Vol 766, pages 32-4. 2015.

DROBYA, S; WISNIEWSKI, M; MACARISIN, D; WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm. **Postharvest Biology and Technology**. Pag. 137–145. 2009.

DUARTE-VOGEL, S.; VILLAMIL-JIMÉNEZ, L. C. Micotoxinas en la Salud Pública. **Revista de Salud Pública**. Fecha de consulta: 12 de agosto de 2019. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42289911>. ISSN 0124-0064. 2006.

EL KHOURY, A.; ATOUI, A.; YAGHI, J. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. **Food Control**, [S.I.], v. 22, n. 10, p. 1695-1699, 2011.

ELIAS, M. C. **Armazenamento e conservação de grãos**. Pelotas: **Editora e Grafica Universitaria da UFPel**, 2003. Apostila. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA2bQAG/armazenamento-conservacao-graos>>. Acesso em: jul, 2019.

EL-NEMAZI, H.; KANKAANPAA, P.; SALINEN, S.; MYKKANEN, H.; AHOKAS, J. Use of probiotic bacteria to reduce aflatoxin uptake. **Revue de Medecine Veterinarie**, 149: 570. 1998.

FAZELI, M. R.; HAJIMOHAMMADALI, M.; MOSHKANI, A.; SAMADI, N.; JAMALIFAR, H.; KHOSHAYAND, M. R.; VAGHARI, E.; POURAGAH, S. Aflatoxin B1 binding capacity of autochthonous strains of lactic acid bacteria. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 1, p. 189-92, 2009.

FDA. FOOD Safety and inspection service. **Federal Register**. Rules and Regulations, vol. 64, n. 246. 1999.

FUCHS, S.; SONTAG, G.; STIDL, R.; EHRLICH, V.; KUNDI, M.; KNASMULLER, S. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. **Food and Chemical Toxicology**, 46: 1398-1407. 2008.

GALVANO, F.; GALOFARO, V.; RITIENI, A.; BOGNANNO, M.; DE ANGELIS, A.; GALVANO, G. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: Second year of observation. **Food additives and contaminants**. 644-6. 10.1080/02652030118086. 2001.

GALVANO, F.; PIVA, A. R.; GALVANO, G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins : A review. **Journal of Food Protection**, 64: 120-131. 2001

GERBALDO, G.; BARBERIS, C.; PASCUAL, L.; DALCEROA, A.; BARBERIS, L. Antifungal activity of two Lactobacillus strains with potential probiotic properties. **FEMS Microbiology Letters**, n. 332, p. 27-33, 2012.

GIBSON, R. M.; BAILEY, C. A.; KUBENA, L. F.; HUFF, W. E.; HARVEY, R. B. Ochratoxin A and dietary protein. 1. Effects on body weight, feed conversion, relative organ weight and mortality in three week old broilers. **Poultry Science**, 68: 1658-1663. 1989.

GIRISH, C. K.; DEVEGOWDA, G. Efficacy of glucomannan-containing yeast product (Mycosorb®) and hydrated sodium calcium aluminosilicate in preventing the individual and combined toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in commercial broilers. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, 19: 877-883. 2006.

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L.B. Antimycotic and antiaflatoxigenic effects of LAB: A review. **J. Food Protection** 57: 1275-1280. (1995).

GOURAMA, H.; BULLERMAN, L.B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species. **Journal of Food Protection**, [S. I.], v. 58, n. 11, p. 1249–1256, 1995.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; SHAH, N. P. Probiotic dairy products as functional foods. **Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 455–470, 2010.

GUPTA J. K, S. A.; HOFMEYR, G.; VOGEL, J.P. Position in the second stage of labour for women without epidural anaesthesia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. 2017, Issue 5. Art. No.: CD002006. DOI: 10.1002/14651858.CD002006.pub4.

HAAZELE, F. M.; GUENTER, W.; MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A Beneficial effects of dietary ascorbic acid supplement on hens subjected to ochratoxin A toxicosis under normal and ambient temperatures. **Canadian Journal of Animal Science**, 73: 149-157. 1993.

HARVEY, R. B.; KUBENA, L. F.; ELLISALDE, M. H.; PHILLIPS, T. D. Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. **Avian Diseases**, 37: 6773. 1993.

HUFF, W. E.; WYATT, R. D.; TUCKER, T. L.; HAMILTO, P. B. Ochratoxicosis in the broiler chicken. **Poultry Science**, 53: 1585-1591. 1974.

HUSSEIN, H. S.; BRASEL, J. M. **Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals**. Toxicology, 167 pp. 101-134. 2001

KECECI, T.; OGUZ.; H.; KORTOGLU, V. DEMET, O. Effects of polyvinylpolypyrrolidine, synthetic zeolite and Bentonite on serum biochemical and haematological charactors of broiler chickens during aflatoxicosis. **British Poultry Science**, 39: 452-458. 1998.

KERKADI, A.; BARRIAULT, C.; TUCHWEBER, B.; FROHLICH, A. A.; MARQUARDT, R.R.; BOUCHARDAND, G.; YOUSEF, I. M. Dietary cholestyramine reduces ochratoxin A-induced nephrotoxicity in the rat by decreasing plasma levels and enhancing fecal excretion of the toxin. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, 3: 231-250. 1998.

LANZA, G. M.; WASHBURN, K.W.; WYATT, R. D. The effect of linoleic acid on broiler response to graded levels of aflatoxin. **Archiv fur Geflugelkunde**, 45: 206-211. 1981.

- MADSEN, A.; HALD, B.; MORTENSEN, H.P. Feeding experiment with ochratoxin a contaminated barley for bacon pigs-3. Detoxification by ammonia heating +NaOH or autoclaving. **Acta Agriculturae Scandinavica**, 33: 171-175. 1983
- MADYASTHA, M. S.; MARQUARDT, R. R.; FROHLICH, A. A. Effect of dietary cholestyramine in the elimination of ochratoxin A in rats. **Food Additives and Contaminants**, 30: 709-714. 1992.
- MAGNUSSON, J.; SCHNURER, J. Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound Appl. Environ. **Microbiol.** 67: 1-5. 2001
- MARIN, S.; RAMOS, A. J. G.; CANO-SANCHO, V. S. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food Technology Agrotecnio Center**, University of Lleida, Rovira Roure, Spain. 218–237. 2013.
- MORAIS, P. B.; MARTINS, M. B.; KLACZKO, L. B.; MENDONÇA-HAGLER, L. C.; HAGLER, A. N. Yeast succession in the amazon fruit *Parahancornia amapa* as a resource partitioning among *Drosophila* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, 61: 4251-4257. 1995.
- MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. *Microbiologia Médica*, **Elsevier**. 7:187-315. 2006
- OLARTE, R.A.; HORN, B.W.; DORNER, J.W.; MONACELL, J.T.; SINGH, R.; STONE, E.A.; CARBONE, I. Effect of sexual recombination on population diversity in aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and evidence for cryptic heterokaryosis. **Molecular Ecology** 21: 1453-1476. 2012.
- OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, vol. 31, n.4, p.417-424, Aug. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003489101997000400011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 Aug. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S003489101997000400011>.
- ONILUDE, A. A.; FAGADE, O. E.; BELLO, M. M.; FADAHUNSI, I. F. Inhibition of aflatoxin-producing aspergilli by lactic acid bacteria isolates from indigenously fermented

cereal gruels. Microbial Physiology and Biotechnology Research, Department of Botany and Microbiology, University of Ibadan, Ibadan, NIGERIA. **African Journal of Biotechnology**, Vol. 4 (12), pp. 1404-1408, December 2005.

PALUMBO, J. D.; O'KEEFFE, T. L.; MAHONEY, N. E. Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. **Mycopathologia**, 164: 241-248. 2007.

PASCARI, X.; RAMOS, A.J.; MARIN, S.; SANCHIS, V. Micotoxinas e cerveja. Impacto do processo de produção de cerveja na contaminação por micotoxinas. Uma revisão. **Food Research International**, 103, 121-129. 2018.

PATIAL, V.; ASRANI, R. K.; PATIL, R. D.; LEDOUX, D. R.; ROTTINGHAUS, G. E. Pathology of ochratoxin A induced nephrotoxicity in japanese quail and its protection by seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). **Avian Diseases**, 57: 767-779. 2013.

PATIL, R.D; RINKU, S.; RAJESH, K. A. Mycotoxicosis and its control in poultry: A review. **Journal of Poultry Science and Technology**. Vol 2, Pages 01-10. 2014.

PERSONS, K.; RAINES, J.M.; RODRIGUEZ, J.M. Antagonistic effects of *Saccharomyces cerevisiae* on the growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* at varying temperatures, **Mycology: An International Journal on Fungal Biology**, 4:1, 38-43. 2013.

PFLIEGLER, W. P.; PUSZTAHELYI T.; PÓCSI, I. Mycotoxins - prevention and decontamination by yeasts. **J Basic Microbiol**. Jul; Doi: 10.1002/jobm.201400833.. Review. PMID: 25682759. 2015.

PIERIDES, M.; EL-NEZAMI, H.; PELTONEN, K.; SALMINEN, S.; AHOKAS, J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. **Journal of Food Protection**, [S. I.], v. 63, n. 5, p. 645-50, 2000.

PIMENTA, R.S.; MORAIS P.B.; ROSA, C.A.; CORRÊA, A. Utilization of Yeasts in Biological Control Programs. In: Satyanarayana T., Kunze G. (eds) *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. **Springer**, Dordrecht, 2009.

PIMENTA, R.S.; SILVA, F.L.; SILVA, J.F.M.; MORAIS, P.B.; BRAGA, D.T.; ROSA, C.A.; CORRÊA JR, A. Integrated control of *Penicillium digitatum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis crataegensis* and sodium bicarbonate on oranges. **Brazilian Journal of Microbiology** .2010.

PIMENTA, R.S.; SILVA, F.L.; SILVA, J.F.M.; MORAIS, P.B.; BRAGA, D.T.; ROSA, C.A.; CORRÊA JR, A. Biological control of *Penicillium italicum*, *P. digitatum* and *P. expansum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis schoenii* on oranges. **Brazilian Journal of Microbiology**. 2008.

PRADO G., MADEIRA J. E., MORAIS V. A., OLIVEIRA M. S., SOUZA R. A., PELUZIO J. M., GODOY I. J., SILVA J. F., PIMENTA R. S. Reduction of aflatoxin B1 in stored peanuts (*Arachis hypogaea* L.) using *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Food Prot.** 74: 1003–1006. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-10-380. 2011.

RAMA, D. V.; GOPAL, N. N. R.; RAVIKUMAR, P. An assessment of the protective effect of bentonite on ochratoxycosis in broiler with reference to certain haematobiochemical profiles. **Indian Veterinary Journal**, 77: 303-306. 2000.

REID, L.M.; MCDIARMID, G.; PARKER, A.J.; WOLDEMARIAM, T. CO441 Corn inbred line. **Canadian Journal of Plant Science**. 83: 79-80. 2003.

REVERBERI, M.; ZJALIC, S.; RICELLI, A.; FABBRI, A. A.; FANELLI, C. Oxidant/antioxidant balance in *Aspergillus parasiticus* affects aflatoxin biosynthesis. **Mycotoxin Research**, 22: 39-47. 2006.

ROSA, C. A; PÉTER, G. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts. **Springer Berlin**, 2006.

SANTIN, E.; PAULILLIO, A. C.; MAIORKA. P. C.; ALESSI, A. C.; KRABBE, E. L.; MAIORKA, A. The effects of ochratoxin/aluminosilicate interaction on the tissues and humoral response of broilers. **Avian Pathology**, 31: 73. 2002.

SARIMEHMETOGLU, B.; KUPLULU, O.; CELIK, T. H. Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. **Food Control**, [S. I.], v. 15, n. 1, p. 45-49, 2004.

SERRANO-NINO, J.C.; CAVAZOS-GUARDUNO, A.; HERNANDEZ-MENDOZA, A.; APPELEGATE, B.; FERRUZZI, M.G.; SAN MARTIN, G.M.F.; GARCIA, H.S. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. **Food Control**, n.31, p. 202-207, 2013.

SHANE, S. H. Economic issues associated with aflatoxins D.L. Eaton, J.D. Groopman (Eds.). **The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance**, Academic Press, San Diego, pp. 513-527. 1994.

SHETTY, P.; JESPERSEN, L. Saccharomyces cerevisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. **Trends in Food Science Technology**, 17: 48-55. 2006.

SILVA, F.C.; CHALFOUN, S.M.; BATISTA, L.R.; SANTOS, C.; LIMA, N.; Taxonomia Polifásica para Identificação de *Aspergillus* seção *Flavus*: Uma Revisão. **Revista IFES Ciência**, v.1, n. 1, p. 18-40, 2015

SMITH, J.W.; HILL, C. H.; HAMILTON, P. B. The effect of dietary modifications on aflatoxicosis in the broiler chicken. **Poultry Science**, 50: 768-774. 1971.

TONG, C. H.; DRAUGHON, F.A. Inhibition by antimicrobial food additives of ochratoxin A production by *Aspergillus sulphureus* and *Penicillium viridicatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, 49: 1407-1411. 1985.

VANDEGRAFT, E.E.; HESSELTINE, C.W.; SHOTWELL, O.C. Grain preservatives: effect on aflatoxin and ochratoxin production. **Cereal Chemistry**, 52: 79-84. 1975.

VASANTHI, S.; BHAT, R. V. Mycotoxins in foods-occurrence, health and economic significance and food control measures. **Ind. J. Med. Res.**, 108 pp. 212-224. 1998

WIELOGÓRSKA, E.; MACDONALD, S.; ELLIOTT, C. T. A review of the efficacy of mycotoxin detoxifying agents used in feed in light of changing global environment and legislation. **World Mycotoxin Journal** 9 (3): 419-433. DOI: 10.3920/WMJ2015.1919. 2016.

YOON, Y.; BAECK, Y.J. Aflatoxin binding and antimutagenic activities of *Bifidobacterium bifidum* HY strains and their genotypes. **Korean Journal of Dairy Science**, 21: 291-298. (1999).

ZAIN, M. E. Impact of mycotoxins on humans and animals. Medical Laboratory Sciences Dept., College of Applied Medical Sciences, Al-Kharj University, Saudi Arabia. **Journal of Saudi Chemical Society**. Volume 15, Issue 2. Pages 129-144. April 2011.

Capítulo 2:

CONTROLE BIOLÓGICO DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM



Capítulo 1: Controle biológico de aflatoxinas em amendoim

*Mirelle Ribeiro Araujo
Geovanka Marcelle Aguiar Leão
Juliana Fonseca Moreira da Silva*

Capítulo publicado no pelo Conselho Editorial da EDUFT através do EDITAL N° 016/2018
– EDUFT com o ISBN 978-85-60487-73-8

CONTROLE BIOLÓGICO DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM

O amendoim (*Arachis hypogae* L.) é originário da América do Sul, uma planta dicotiledônea, herbácea, ramificada, de porte ereto ou rasteiro pertence à família *Fabacea* (*Leguminosae*), subfamília *Papilonoideae*, gênero *Arachis*, é a quarta oleaginosa mais cultivada no mundo, o Brasil colheu em torno de 433,4 toneladas de amendoim em grãos, na safra de 2016/2017 correspondendo a um aumento de 6.7% comparado com a safra anterior (SNA, 2017).

A região sudeste do Brasil é a maior produtora, destacando-se o estado de São Paulo, que responde por 90% da produção nacional. Estima-se que cerca de 80% das áreas de plantação visa a exportação europeia, e o restante para o consumo interno, principalmente na forma de doces (IBGE, 2016; SNA, 2017).

As aflatoxinas são um dos principais problemas associados com a produção de amendoim, que podem comprometer a qualidade do grão e depreciam seu valor comercial. Eles são metabolitos secundários tóxicos produzidos pelos fungos pertencentes ao gênero *Aspergillus*, especialmente por *A. flavus*, *A. parasiticus*, e *A. nomius* (KENSLE et al., 2011).

Devido à natureza altamente tóxica da aflatoxina, a sua contaminação em produtos alimentares é rigorosamente controlada com um limite máximo permitido para diferentes alimentos em todo o mundo.

No Brasil, a RDC nº. 07 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Anvisa-MS) estabeleceu 20 mg kg⁻¹ como o limite máximo permitido para a aflatoxina total (Anvisa, 2011).

Segundo Pereira 2017, micotoxicologia é a área que estuda a produção de micotoxinas por fungos filamentosos. Programas de controle e monitoramento são de total importância e devem ser mantidos tanto para as matérias-primas, como para os produtos acabados, visando à obtenção de um produto com qualidade, pois várias micotoxinas exercem os seus efeitos de diferentes formas, sendo que a sua toxicidade varia em função das suas características.

A contaminação de um alimento por parte dos fungos depende de muitos aspectos, destacando-se entre eles a atividade de água, oxigênio, temperatura, tipo de substrato e pressão osmótica. Saliente-se ainda que a formação de micotoxinas possa começar antes ou depois da colheita e durante o armazenamento. A identificação das micotoxinas e respectiva avaliação quantitativa requer a preparação das amostras, utilização de métodos de extração e técnicas de análise quantitativa (PEREIRA, 2017).

Em climas tropicais e subtropicais, como no Brasil, o desenvolvimento de fungos produtores de micotoxinas é favorecido, havendo inúmeros alimentos passíveis de contaminação, principalmente grãos que são amplamente utilizados na fabricação de rações para diversas espécies animais (OSWALD 2018; MINAFRA, et al., 2018).

Os que apresentam maior risco de contaminação por fungos são o amendoim, o milho e sementes de algodão. No Brasil, a maior incidência de contaminação tem sido descrita em milho e amendoim em grãos, alimentos destinados ao consumo humano e outros animais (IMMAMURA et al., 2014).

A intoxicação por aflatoxinas é conhecida como aflatoxicose, que pode ser aguda ou crônica. A síndrome tóxica aguda caracteriza-se por perda de apetite, febre baixa, depressão, hepatite aguda, icterícia, hemorragias e necrose, já a aflatoxicose crônica, está associado, em seres humanos, ao carcinoma hepatocelular, efeito causado pela ingestão de baixas doses de aflatoxinas por um período prolongado. (PRADO, 2014).

As aflatoxinas são metabólitos extremamente tóxicos, sendo a aflatoxina B1 considerado o mais tóxico, classificado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 1993) como pertencente à classe 1, composto carcinogênico, responsável pela aflatoxicose crônica. (FUNG, 2016).

Como as preocupações sobre a contaminação permanecem alarmantes principalmente para amendoim brasileiro com aflatoxina, novos estudos colaboram para a avaliação de novos métodos para identificar contaminação por aflatoxina que são essenciais para a detecção confiáveis dessas micotoxinas (MARTINS et al., 2017).

O gênero *Aspergillus* sp., são patógenos de plantas que infectam culturas agrícolas (milho, algodão, amendoim e nozes) sendo produtores de aflatoxinas (YU E CLEVELAND, 2004; KENSLER et al., 2011). A toxina é considerada um potencial ameaça biológica pela OMS e também é um conhecido agente cancerígeno. A espécie de *A. parasiticus* é predominante na América do Sul e produtor das principais aflatoxinas (GREAVES, et al., 2010).

A contaminação de alimentos por esta micotoxina é uma preocupação mundial devido as suas propriedades toxicológicas. Existem mais de 20 aflatoxinas conhecidas, porém as 4 principais são AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, sendo a AFB1 a de maior importância devido a sua atividade carcinogênica (DOMINGUES, 2015) e são comumente identificados a partir de amostras de amendoim (PITT E HOCKING, 2009).

As aflatoxinas foram identificadas pela primeira vez como o agente causador de uma doença aguda e fatal em perus, chamada “Doença X dos Perus”. Este surto ocorreu na

Inglaterra em 1960, e afetou mais de 100 mil aves que foram alimentadas com farinha de amendoim proveniente do Brasil (HASCHEK E KENNETH, 2013).

Temperatura elevada e estresse hídrico são os fatores predominantes que condicionam a suscetibilidade do amendoim à contaminação por aflatoxinas. (PAYNE, 2016).

Diante disto, os fungos produzem durante a esporulação micotoxinas e desta forma contaminam os alimentos e consequentemente os animais que os consomem, e consequentemente, prejudicando a saúde humana (MARTINS et al., 2017).

MÉTODOS DE CONTROLE

O controle biológico consiste no uso de organismos vivos para o manejo de pragas e doenças com uma determinada população específica. O foco do controle biológico é controlar as enfermidades presentes no campo, sejam doenças, pragas ou insetos vetores, baseando-se no estudo da relação entre os seres vivos no meio ambiente. Esses inimigos naturais são originados de vários tipos diferentes de seres, como insetos predadores e parasitoides, microrganismos como fungos, vírus e bactérias, sendo eles específicos para determinadas enfermidades. O uso desse tipo de controle se torna aliado do ser humano, pois contribui para a melhoria da qualidade do produto agrícola e não deixa resíduos nos alimentos, além de serem inofensivos ao meio ambiente (EMBRAPA, 2008).

Controle a base de microrganismos

Probióticos

O termo probiótico origina-se do grego e significa “para a vida”; embora essa definição tenha origem nos anos 1990, o interesse por microrganismos potencialmente benéficos à saúde é de tempos antigos. A expressão probiótico foi inicialmente utilizada por Lilly e Stillwell, em 1965, e vem ganhando muitas denominações conceituais, no entanto a definição aceita é que os “Probióticos são microrganismos vivos que, se consumidos de maneira correta, trazem benefícios à saúde do consumidor” (RAIZEL et al., 2011).

Os probióticos possuem vários mecanismos de ação descritos, por exemplo, antagonismo pela produção de substâncias que inibem o crescimento ou eliminam o

microrganismo patogênico, inibição da produção ou da ação de toxinas microbianas, competição por sítio de adesão ou fonte nutricional, imunomodulação do hospedeiro, aumentando a sua resistência à infecção com o microrganismo patogênico dentre outros (CHONG, 2014; AMBALAM et al., 2016).

Os microrganismos mais comumente utilizados como probióticos, são bactérias e leveduras, mas diferenciam-se nos mecanismos de ação, metabolismo e resistência aos antibióticos (NOGUEIRA & GONÇALVES, 2011). Basicamente, um gênero de levedura e quatro gêneros bacterianos são a base para a maioria dos probióticos: *Saccharomyces* (levedura), *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e *Escherichia* (bactérias) (MORAIS & JACOB, 2006).

De acordo com Silva et al, (2015a), estes autores conseguiram reduzir significativamente a esporulação e a produção de micotoxinas do *Aspergillus parasiticus* utilizando microrganismos probióticos.

Gerbaldo et al. 2012 avaliaram as atividades antifúngicas e a redução da aflatoxina B1 promovida por duas espécies de *Lactobacillus* em *Aspergillus* aflatoxigênicos, sugerindo que os mecanismo ação pudesse ser explicados pela degradação da aflatoxina por enzimas produzidas pelos *Lactobacillus*; por competição por nutrientes e espaço; ou pela absorção de aflatoxina na parede celular dos *Lactobacillus*.

Um estudo realizado em condições laboratoriais por Prado et al. (2011), permitiu verificar a eficiência da levedura *S. cerevisiae* em reduzir a produção de aflatoxinas.

Sendo assim, esta revisão propõe uma nova aplicação destes microrganismos, que além da atividade probiótica poderá ser também utilizada como agente de controle da produção de aflatoxinas. Estes microrganismos são encontrados comercialmente na forma liofilizada o que facilitaria o seu uso no controle das micotoxinas.

Microrganismos endofíticos

Os microrganismos endofíticos incluem principalmente fungos e bactérias que vivem no interior das plantas, habitando de modo geral suas partes aéreas, como folhas e caules, sem causar aparentemente nenhum dano a seus hospedeiros (AZEVEDO, 1998; PEIXOTO NETO, et al 2002; PEIXOTO NETO, et al 2004; ASSUMPCÃO et al., 2009). Isso os diferencia dos microrganismos fitopatogênicos, que são prejudiciais às plantas e causam-lhes doenças. Eles

são também distintos dos microrganismos epifíticos, que vivem na superfície dos órgãos e tecidos vegetais (AZEVEDO, 1998; SOUZA et al., 2004).

Microrganismos endofíticos possuem funções importantes para seus hospedeiros, pois apresentam interações simbióticas com o mesmo, e são capazes de proteger as plantas do ataque de insetos, de doenças e do ataque de mamíferos herbívoros por meio da produção de toxinas (AZEVEDO, 1998; AZEVEDO, 1999; AZEVEDO et al., 2000; PEIXOTO NETO; et al. 2002).

Os microrganismos endofíticos produzem metabólitos secundários que possuem uma atividade biológica similar à atribuída à planta que coloniza (ROSA, 2003; PINTO et al., 2011). São conhecidos por produzirem substâncias de grande relevância capazes de inibir ou matar uma variedade de agentes causadores de doenças (DEMAIN, 1999). Estas substâncias, por sua vez, podem ser altamente tóxicas, como as micotoxinas, ou ser bastante úteis por serem utilizadas como fármacos para tratamento de várias patologias.

Soares et al., (2015), utilizaram fungos endofíticos associados à “*Costus spiralis*” produtores de compostos voláteis com atividade antimicrobiana para avaliar seu potencial contra as bactérias de importância médica *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*, que são as causas mais comuns pneumonia bacteriana.

Em 2012, Pimenta et al., obtiveram resultados contra o patógeno *M. fructicola* e *C. gloeosporioides* trabalhando com fungos endofítico isolados de ameixa e descreverem o efeito de compostos voláteis e difusíveis sobre estes fitopatógenos.

Santos e Varavallo (2011) apresentaram um panorama sobre potenciais aplicações de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico, onde mostram que o taxol é um poderoso anticancerígeno e, pode ser obtido de diferentes gêneros de fungos endofíticos.

No entanto, estratégias que permitam a utilização de metabólitos secundários produzidos por microrganismos endofíticos, nas sementes ou plântulas de amendoim talvez possam atuar como uma forma de prevenção da infecção do amendoim com os fungos micotoxigênicos.

Controle a base de substâncias “GRAS”

Quitosana

A quitosana é um polímero linear que pode ser obtido pela desacetilação parcial da quitina. A quitina é composta por cadeias de polissacarídeos de glucosamina e N-acetilglucosamina e possui grupos amino livres que podem interagir com outras moléculas biológicas. A quitosana é um polímero catiônico sensível ao pH que pode ser moldado em várias formas, incluindo grânulos, hidrogéis, nanofibras ou nanopartículas. Como um hidrogel, a quitosana tem propriedades superiores de absorção de água, a que a torna valiosa como hidratante. A quitosana tem grande valor na cicatrização de feridas, pois é um excelente material formador de filme que é naturalmente bioadesivo. Além disso, a quitosana tem efeito antioxidante e de inibição da metaloproteinase. Outro atributo é sua ampla atividade antimicrobiana que inclui bactérias, fungos e leveduras (DRAELOS, 2016).

Na indústria alimentícia a quitosana oferece um amplo espectro de aplicação, pois as maiores perdas são provenientes de contaminações microbiológicas. A quitosana tem sido descrita como um potencial conservante de alimentos principalmente devido à sua atividade antimicrobiana contra uma grande variedade de fungos filamentosos, leveduras e bactérias (FAI et al., 2008; SILVA et al., 2015b).

Os mecanismos de atividade antimicrobiana da quitosana não foram ainda bem elucidados, existindo várias hipóteses. A mais provável é a mudança na permeabilidade celular devido a interações entre cargas positivas das moléculas de quitosana e cargas negativas das membranas das células microbianas. Esta interação leva a quebra de constituintes proteicos e outros componentes intracelulares (FAI et al., 2008; SILVA et al., 2015b).

Os maiores problemas relacionados com as perdas em pós-colheita de alimentos estão relacionados com a degradação por fitopatógenos, alteração fisiológica e injúrias físicas. Um tratamento que pode ampliar o tempo de armazenamento destes produtos é a aplicação de filmes comestíveis na superfície, seguido de armazenamento a baixa temperatura. Os filmes representam uma barreira para reduzir os processos de respiração e transpiração pela superfície do vegetal. Com isto, dificultam o crescimento microbiano, mudanças de cor e outras características de interesse (SÉBASTIEN et al., 2006).

A utilização de quitosana associada ao ácido acético para a formação de um biofilme comestível utilizada em massa de pizza foi capaz de reduzir o crescimento de fungos como *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp., aumentando desta maneira a sua vida de prateleira (RODRIGUEZ et al., 2003).

Em 2015, Silva et al, desenvolveram um biofilme de quitosana e aplicaram em amendoim e obtiveram uma redução na concentração de esporos e aflatoxinas produzidas pelo *A. parasiticus* nos amendoim.

A necessidade de impedir a produção de aflatoxinas em alimentos tornou-se importante, especialmente para grãos como o amendoim, e considerando as características da quitosana, como biocompatibilidade, maleabilidade, biodegradabilidade e perfil atóxico, conferem a essa substância uma grande perspectiva de utilização no controle de fungos aflatoxigênicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. de S. Desempenho agrônômico do Amendoim cv. BR1 submetido a diferentes níveis de salinidade sem e com aplicação de biofertilizante. Universidade Estadual da Paraíba – Catolé do Rocha; 2014.

AMBALAM, P.; RAMAN, M.; PURAMA, R. K.; DOBLE, M. Probiotics, prebiotics and colorectal cancer prevention. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, v. 30, n. 1, p. 119-131, 2016.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. *Diário Oficial da União*, 22 fev. 2011. Seção 1, p.72-73.

ASSUMPÇÃO, L. C.; LAÇAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L.; MENTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2009.

AZEVEDO, J. L. Botânica: uma ciência básica ou aplicada? *Revista brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 225-229, 1999. AZEVEDO, J. L. **Microrganismos endofíticos**. In: MELO, I. S.;

AZEVEDO, J. L. (Ed.) Ecologia microbiana. Jaguariúna: **EMBRAPA**, 1998. p. 117-137.

AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; PEREIRA, J. O.; ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Chile, v. 3, n. 1, p. 40-65.

CONCEIÇÃO, G. M.; ARAGÃO J. G. Diversidade e importância econômica das Myrtaceae do Cerrado, Parque Estadual do Mirador, Maranhão. **Sci. Ple.**, v. 6, p. 1-8, 2010.

CHONG, E. S. L. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 2, p. 351-374, 2014.

DEMAIN, A.L. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v.52, p.455-463, 1999.

DOMINGUES, JÉSSICA MARI. Fermentação em estado sólido de *Aspergillus parasiticus*, produção de aflatoxinas e sua pesquisa em alimentos consumidos regularmente no Brasil. **Dissertação mestrado**, UFPR, Paraná. 2015.

DRAELOS, ZOE DIANA. Cosmecêuticos. **Elsevier Brasil**, 7 de set de 2016 - 240 páginas.

EMBRAPA. Controle Biológico. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. **Parque Estação Biológica**. Brasília. p. 2. 2008.

FAI, A. E. C.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Rev. Iberoamer. Polim.**, v. 9, p. 435-451, 2008.

FILHO, VENTURINI; GASTONI, WALDEMAR. Bebidas alcoólicas: **ciência e tecnologia**. Editora Blucher, 25 de mai de 2018 - 575 páginas

FUNG, FREDERICK; Aflatoxina (Espécie *Aspergillus*) Ataque - **Disaster Medicine (segunda edição)** de Ciottone, 2016.

GERBALDO, G. A. et al. Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties. *FEMS Microbiology Letters*, v. 332, n.1, p 27–33, 2012.

GREAVES, IAN; FRCP; FCEM; FIMC; RCS (Ed), DTM & H; DMCC; DipMedEd, RAMC , Paul Caça MBBS, DipIMC (RCSEd); MCEM; MRCSEd; DMCC; RAMC; **Em resposta ao Terrorismo** - Agentes Biológicos, 2010.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; PATRÍCIA L.; MORELLATO C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. Artigo de revisão. **Rev. Brasil. Bot.**, v.29, p.509-530, 2006.

HASCHEK, WANDA M.; KENNETH A. Avaliação de segurança, incluindo questões atuais e emergentes em patologia toxicológica - **Manual de Patologia Toxicológica (terceira edição)**, 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola**. 2016. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> . Acesso em 02 de Setembro de 2018

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – IARC. Some naturally occurring 12 substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. **Lyon: IARC Press**, 1993. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, v. 56).

IMMAMURA KB, TONI JCV, BOCHE MAL, SOUZA DA, GIANNONI JA. Incidência de aflatoxinas no amendoim (*Arachis hypogaea* L) cru em casca da região da Alta Paulista-SP, durante o período de 2011 a 2012. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2014; 73(2):178-87.

JUNIOR, ARY CORRÊA; FERNANDES, GERALDO WILSON; ROSA, CARLOS AUGUSTO. Distribuição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de *Bauhinia brevipes* (Fabaceae). **Acta Bot. Bras.** vol.25 no.4 Feira de Santana out./dez. 2011.

KENSLER, TW; ROEBUCK, BD; Wogan, GN; Groopman, JD Aflatoxina: a odisséia da toxicologia mecanicista e de translação de 50 anos. **Ciências toxicológicas**, v.120, p.28- 48, 2011. DOI: 10.1093 / toxsci / kfq283.

LIMA, T. M. Cultivo do Amendoim Submetido a Diferentes Níveis de Adubação Condições Edafoclimáticas no Sudoeste de Goiás. 2011. 133 f. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Universidade Federal de Goiás, Jatai, GO, 2011.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES A. T.; MENUT, C.; BESSIÈRE J. M.. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Quim. Nova**, v. 27, p. 916-919, 2004.

LUGHADHA, E.; SNOW, N. Biology and evolution of the Myrtaceae: A Symposium. **Kew Bulletin** v. 55, p. 591-592.

MARIN, DE; TARANU, I.; BUNACIU, RP. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. **J Anim Sci** 2002; 1(80); 1250 - 1257.

MARTINS, F. S.; BARBOSA, F. H. F.; PENNA, F. J.; ROSA, C. A.; NARDI, R. M. D.; NEVES, M. J.; NICOLI, J. R. Estudo do potencial probiótico de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* através de testes in vitro. **Rev. Biol. Cienc. Terra**, v.5, 2005.

MARTINS, L.M.; SANT'ANA, A.S.; FUNGARO, M.H.P.; SILVA, J.J.; NASCIMENTO, M. da S. do; FRISVAD, J.C.; TANIWAKI, M.H. The biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in the Brazilian peanut production chain. **Food Research International**, v.94, p.101-107, 2017.

MINAFRA, C. S.; RODRIGUES, D R.; VACCARI, I. C. M; DUARTE, V.; DOS SANTOS, F. R.; SILVA, W. J. DA; GOUVEIA, ALISON B. V. S.; DE PAULO, L. M.; DOS SANTOS, J. B.; SILVA, J. M. S. Lesões orais em frangos de corte provocadas por micotoxinas do milho: Revisão. **PUBVET – Medicina veterinária e zootecnia**. v.12, n.7, a134, p.1-11, Jul., 2018.

MORAIS MB DE, JACOB CMA. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. **J Pediatr**.82 (5): S189-S197, 2006.

NASCIMENTO, RODRIGO P. D.; RIBEIRO, BERNARDO D.; PEREIRA, KAREN S. C.; MARIA A. Z.; Microbiologia Industrial: Bioprocessos. **Elsevier Brasil**, 22 de nov de 2017 - 704 páginas.

NOGUEIRA, JANAÍNA C R.; GONÇALVES, MARIA DA C R. Probióticos - Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. Volume 15 Número 4 Páginas 487-492. ISSN 1415-2177. 2011.

OSWALD, ISABELLE P. Impacto de las micotoxinas en la salud intestinal de los cerdos. **Dialnet**. Suis, ISSN 1699-7867, Nº. 145, págs. 16-20. 2018.

PAYNE, GARY A. Micotoxinas e Segurança do Produto em amendoim - **Patogenicidade e Epidemiologia**, 2016.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. **Microrganismos endofíticos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 29, p. 62-77, 2002.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; CAETANO, L. C. Microrganismos endofíticos em plantas: status atual e perspectivas. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, Santiago, v. 3, n. 4, p. 69-72, 2004.

PEREIRA, ANA VANESSA ANDRADE. Estudo e implementação de um sistema de testes rápidos para a avaliação de micotoxinas em aperitivos, frutos secos e desidratados em indústria alimentar. **Instituto Superior de Engenharia de Coimbra**. Coimbra, janeiro 2017.

PIMENTA, R. S.; SILVA, J. F. M.; BUYER, J. S.; JANISIEWICZ, W. J. . Endophytic fungi from plums (*Prunus domestica*) and their antifungal activity against *Monilinia fructicola*. **J. Food Protec.** v. 75, p. 1883-1889, 2012.

PINTO, W. S.; ROSA, L. H.; SILVA, J. F. M.; PERIM, M. C.; BORGES, J. C.; JANIEWICZ, W. J. ; PIMENTA, R. S. Diversity and Antimicrobial Activities of Endophytic Fungi Isolated from *Myrcia Sellowiana* in Tocantins, Brazil. **Hortscience**, v.905, p.283-286, 2011. DOI:10.17660/ActaHortic.2011.905.31

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage**. 3rd ed. New York: Springer, 2009. DOI: 10.1007/978-0-387-92207-2.

PRADO, G.; MADEIRA, J. E. G. C. ; MORAIS, V. A. D. ; OLIVEIRA, M. S. ; PELUCIO J M ; SILVA, J. F. M.; PIMENTA, R. S.. Reduction of aflatoxin B1 in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) using *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Food Protec.**, v. 74, p. 1003-1006, 2011.

PRADO G. Contaminação de alimentos por micotoxinas no Brasil e no mundo. GERAIS; SUS/mg. **Journal of public health**, v. 2, p. 11-24, 2014.

RAIZEL, R. et al. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, jul./dez. 2011.

ROCHA, LUIZ A. O.; BACKE, NÊMORA F.; GRAEF, IVAN R.; FILHO, WOLMAR A. S. Biodiesel, um combustível renovável não poluente: E o que fazer com o glicerol?. **Anais do Salão Internacional de Ensino**, Pesquisa e Extensão. ISSN: 2317-3203. Universidade Federal do Pampa, 2011.

RODRIGUEZ, M. S.; RAMOS, V.; AGUILÓ, E. Antimicrobial action of chitosan against spoilage organisms in precooked pizza. **Journal Food Science.**, v. 68, p. 271-274, 2003.

ROSA, L.H.; MACHADO, K.M.G.; JACOB, C.C.; CAPELARI, M.; ROSA, C.A.; ZANI, C.L. Screening of brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.98, n.7, p.967-974, 2003. DOI:10.1590/s0074-02762003000700019

ROSA, C.S.; K.S. VERAS; P.R. SILVA; J.J. LOPES NETO; H.L.M. CARDOSO; L.P.L. ALVES; M.C.A. BRITO; F.M.M. AMARAL; J.G.S. MAIA; O.S. MONTEIRO; D.F.C. MORAES. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Volume 18, Number 1, 2016, pp. 19-26(8).

SANTANA, C B; SOUZA, J G DE L; CORACINI, MIRIAN D A; WALERIUS, ADRIANA H; SOARES, VANESSA D; COSTA, WILLIAN F D; PINTO, FABIANA G DA S.

Composição química do óleo essencial de myrcia oblongata dc e potencial atividade antimicrobiana, antioxidante e acaricida contra dermanyssus gallinae (DEGEER, 1778) - DERMYSYSUS GALLINAE (DEGEER, 1778). **REVISTA DE BIOCIÊNCIA**. Uberlândia, MG, Brasil, 2018.

SANTOS, TAIDES T. D; VARAVALLO, MAURILIO A.; Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 32, n. 2 (2011).

SÉBASTIEN, F.; STÉPHANE, G.; COPINET A.; COMA V. Novel biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) with antifungal properties against mycotoxinogen strains. **Carbohy. Polym.**, v. 65, p. 185-193, 2006.

SCIGLIANO, SONIA CESARINO. Família Myrtaceae. **Jardim Cor**, PAISAGISMO E JARDINAGEM. 2017.

SCUSSEL, VM. Micotoxinas em alimentos. Florianópolis: **Insular**, 1998. p.144.

SIQUEIRA, HUMBERTO F. DE; SOUZA, LUZIA F. D.; AMARAL, ÉRICA V. E. J.; JUNIOR, VILSON Q. DE S. A família Myrtaceae no Brasil. **64º Congresso Nacional de Botânica, Belo Horizonte**, 10-15 de Novembro de 2013.

SILVA, J.F.M.; et al. Use of probiotics to control aflatoxin production in peanut grains. *Sci. World Journal* v.1, p1-8, 2015 a, doi:10.1155/2015/959138.

SILVA, J.F.M.; et al. Utilização de filme de quitosana para o controle de aflatoxinas em amendoim. *Bragantia*, v. 74, n 4, p.467-475, 2015b.

SNA – SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA SP produz 90% da safra de amendoim estimada em 433 mil toneladas, 2017. Disponível em: <http://www.sna.agr.br/sp-produz-90-da-safra-de-amendoim-estimada-em-433-mil-toneladas/>. Acessado em 06-09-2018.

SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L.; ASTOLFI FILHO, S.; BELÉM PINHEIRO, M. L.; SARQUIS, M. I. M.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos

isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 2, p. 185- 195, 2004.

SOARES, DEYZE ALENCAR; ASCENCIO, POLIANA GUERINO MARSON; LEÃO, GEOVANKA MARCELLE AGUIAR; RODRIGUES, KATARINA MIRNA TENÓRIO MARINHO; PIMENTA, RAPHAEL SANZIO. Detecção de compostos voláteis com atividade antibacteriana por fungos endofíticos associados à *Costus spiralis*. J. Bioen. **Food Sci.**, v. 02, n.4, p 156-159, 2015.

SMITH, TK, SEDDON, IR. Synergism demonstrated between fusarium mycotoxins. **Feedstuffs**, p.12 – 16,1998.

YU, JIUJIANG; CLEVELAND, T. E.; em Micologia Aplicada e Biotecnologia - **Genômica Fúngica**, 2004.

Capítulo 3:

MANCHA-BACTERIANA DA MANGUEIRA (*XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *MANGIFERA INDICAE*): ETIOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE

Bacterial stain of the mango (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*):
Etiology and control strategies

Mancha bacteriana de la manguera (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*):
Etiología y estrategias de control



Mirelle Ribeiro Araújo¹ ; Geovanka Marcelle Aguiar Leão.¹; Raul da Conceição Alves da Silva¹; Adriana Idalina Torcato Oliveira.¹; Juliana Fonseca Oliveira da Silva¹

¹Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Tocantins, Brazil

*Correspondência: Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada, Campus de Palmas, Av. NS 15, 109 Norte, Palmas, Tocantins, Brasil. CEP: 77.010-090. e-mail mirellera84@gmail.com

Artigo recebido em 29/04/2019 aprovado em 03/05/2019 publicado em 16/06/2019.

MANCHA-BACTERIANA DA MANGUEIRA (*XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *MANGIFERAINDICAE*): ETIOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE

Introdução

O cultivo da manga em larga escala no Tocantins vem se expandindo principalmente no projeto Hidroagrícola Manuel Alves, situado no município de Dianópolis, região sudeste do estado do Tocantins. Em 2011, iniciou-se o plantio da variedade Palmer, escolhida por ter boa aceitação nos mercados e com melhor adaptação as condições climáticas da região. Segundo o gerente agrícola responsável Patrik Diogo Antunes, o crescimento da produção vem sendo alavancado pela demanda de mercado e bons preços da fruta, no primeiro ano foram colhidas cerca de 50 toneladas, podendo chegar em 2018 a 230 toneladas (Conexão Tocantins, 2016).

A manga Palmer foi originada na Flórida em 1945, e introduzida no Brasil na década de 60, por ser uma variedade mais resistente às doenças têm substituído outras mangas em plantios comerciais, principalmente as variedades Hadens (Ferreira, 2010).

A vida pós-colheita da manga é limitada pela deterioração fisiológica causada pelo excessivo amadurecimento da fruta e pelo desenvolvimento de patógenos que ocasionam podridões. Além disso, a perda de água pode atingir níveis que causam enrugamento e murchamento dos frutos, comprometendo o aspecto visual e reduzindo seu valor comercial (Rossetto et al., 2000).

A crescente preocupação com o conceito de qualidade mercadológica e a preservação do ambiente têm aumentado a procura por frutas saudáveis e sem resíduos de agroquímicos (Rozwalka et al., 2008; Nogueira et al., 2011), havendo uma necessidade crescente de estratégias de controle alternativas (Lapeyre de Bellaire e Mourichon, 2000).

A Mancha angular é provocada pelo microrganismo *Xanthomonas campestris* PV *mangiferaeindicae*. As condições predisponentes ao ataque da bactéria são alta umidade e alta temperatura. Chuva de pedra, ventos fortes ou qualquer outro fator que danifique a superfície da planta irão favorecer a penetração do patógeno e a severidade dos sintomas. (Ribeiro, 1997)

A cultura da manga no Brasil

A fruticultura é um dos setores de maior destaque do agronegócio brasileiro. Através de uma grande variedade de culturas, produzidas em todo o país e em diversos climas, a fruticultura conquista resultados expressivos e gera oportunidades para os pequenos negócios brasileiros. O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, ficando atrás apenas de China e Índia, o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira (Sebrae, 2015).

Embora a produção nacional de mangas venha caindo desde 2010, quando foram produzidas 1.189.651 toneladas, o Brasil ainda figura entre os maiores produtores da fruta. Hoje, segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO), o País está em sétimo lugar no ranking dos grandes produtores de manga do mundo. Em 2015, no último levantamento

consolidado do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foram cultivados 64.305 hectares no território nacional, com colheita de 976.815 toneladas e produtividade média de 15.190 quilos por hectare (Anuário brasileiro de fruticultura, 2017).

Um fator limitante a comercialização da manga, tanto no mercado externo quanto interno, é sua alta permissibilidade, característica comum às frutas tropicais. Consumida em sua grande maioria na forma in natura, não tem suas tecnologias totalmente exploradas, logo o aumento na industrialização solucionaria os problemas de perdas na pós-colheita e ao longo da cadeia produtiva, ofertando ao consumidor uma maior variedade de produtos, além de agregar valor à matéria-prima (Rocha, 2017).

Mancha-bacteriana na Mangueira

A Mancha angular é causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* PV *mangiferae*indicae, é uma doença que ataca ramos, folhas, inflorescências e frutos da mangueira, em períodos úmidos prolongados. No estado de São Paulo, onde os relatos dessa doença são mais severos, os danos podem ser superiores a 70%. Os sintomas são lesões escuras em folhas, limitadas pelas nervuras, com halo amarelado ou tecido encharcado. No início da manifestação da doença, essas lesões são bastante similares àquelas provocadas pela antracnose. A penetração da bactéria ocorre através de lesões e aberturas naturais. Condições ambientais com temperatura e umidade altas são condições favoráveis à doença, bem como ventos fortes por causar as lesões (Batista e Barbosa, 2008).

Medidas de controle

A primeira medida de controle é a escolha do local, deve-se evitar locais sob influência de grandes massas de água, como represas das hidroelétricas, pois criam um ambiente favorável ao desenvolvimento da bactéria. A segunda medida é o uso de mudas sadias e de viveiros localizados em regiões onde a doença não ocorra. (Ribeiro, 1997). Uma outra possibilidade seria a desinfestação das tesouras (poda e colheita) entre cada uma das plantas (Nascimento e Mariano 2004).

Recomenda-se em pomares de copas adensadas erguer a copa da planta e realizar a poda central de aeração e da limpeza do ambiente. Intensificar inspeções nos períodos de temperaturas menores que 25oC, aliados à época de chuvas e ventos fortes (Embrapa, 2005).

Várias pesquisas estudam a estrutura química e a atividade antimicrobiana natural de plantas, frutos, hortaliças, grãos e ervas. Os esforços têm-se concentrado na utilização de recursos naturais como extratos e óleos essenciais (Ávila-Sosa et al., 2012; Silva et al., 2005; Assis et al. 1995).

O extrato de sucupira mostrou potencial fungicida e bactericida, o que pode representar uma alternativa econômica e ecologicamente viável, pois o seu processo de obtenção utiliza apenas os frutos (favas), sem comprometer a sobrevivência das árvores. O extrato de sucupira inibiu o desenvolvimento micelial de *Alternaria brassicae*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Ceratocystis fimbriata*, bem como de colônias bacterianas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e *Pseudomonas syringae* (Silva et al., 2005).

Estudos revelaram que isolados de *Pseudogymnoascus* em associação com macroalgas da antárticas apresentaram compostos capazes de inibir *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*,

Clavibacter michiganensis e *Xanthomonas campestris* (Henríquez et al, 2014). Furbino et al, 2015, associou macroalgas endêmicas da região antártica com isolados de *Pseudogymnoascus* e verificaram que esta associação inibiu os microrganismos *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cladosporium sphaerosperum*.

Segundo Fonseca (2018) dos 57 extratos intracelulares metabolizados por fungos de sedimentos marinhos, apenas 2 foram positivos para a *Xanthomonas euvesicatoria*, por outro lado, 40 extratos inibiram a *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. Além dos resultados acima apresentados, Vieira et al. (2018) e Purić et al. (2018) testaram estes extratos contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, que causa a mancha bacteriana do maracujazeiro, e *X. citri* subsp. *citri*, causadora do cancro cítrico em laranjas e 22 extratos apresentaram inibição acima de 90% das células bacterianas, sendo a maior inibição de 99%.

O uso indiscriminado de agroquímicos pode provocar atrofobiose e efeitos iatrogênicos (nanismo, enfezamento, clorose amarelecimento, baixo índice de vingamento de flores, frutos pequenos) nas plantas, desequilíbrio biológico e danos ao meio ambiente (Zambolim e Junqueira 2013). Tem sido observado entre estirpes de *X. campestris* pv. *vitícola* a ocorrência da resistência ao cobre, oxitetraciclina, sulfato de gentamicina, kasugamicina e estreptomicina (Chand et al., 1994; Nascimento et al., 2000; Araújo et al., 2004).

O uso contínuo de fungicidas sintéticos pode conduzir ao desenvolvimento de estirpes resistentes, causando desequilíbrio ambiental, pela falta de seletividade dos produtos utilizados. Além disso, resíduos de fungicidas presentes na superfície da fruta pode representar sérias ameaças para os consumidores e para o ambiente (Azerêdo 2013). Esta preocupação exige o desenvolvimento de alternativas saudáveis no controle de doenças em frutos tropicais, apresentando como característica a fácil disponibilidade na natureza, ser biodegradável, renovável e seguro para a saúde humana (Zoubiri e Baaliouamer, 2011).

Referências

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2017, Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2017.87p.

ARAÚJO, J.S. de P.; ROBBS, CF & RIBEIRO R. DE LD. Manejo integrado de fitobacterioses de importância econômica no Brasil. Parte 2. RAPP. Revisão anual de Fitopatologia de Plantas. 12: 145-199, 2004.

ASSIS, S.M.P., MARIANO, R.L.R., REIS, A., SILVEIRA, E.B. & MICHEREFF, S.J. Ação de rizobactérias no crescimento de rabanete e no controle biológico da podridão negra e da antracnose. Arquivos de biologia e tecnologia 38: 843-850. 1995.

AVILA-SOSA, R.; PALOU, E.; MUNGUÍA, M. T. J.; NEVÁREZ-MOORILLÓN, G. V.; CRUS, A. R. N.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. International Journal of Food Microbiology, v. 153, n. 1-2, p. 66-72, 2012.

AZERÊDO L. P. M. Qualidade de Mangas “Tommy Atkins da produção integrada sob recobrimentos biodegradáveis associados a óleos essenciais de ervadoce e orégano. Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos. Universidade Federal da Paraíba 2013

BATISTA, D. C.; BARBOSA, M. A. G. Doenças da mangueira. In: In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA, 1.; FEIRA NACIONAL DA AGRICULTURA IRRIGADA - FENAGRI, 2008, Petrolina. Minicursos. Petrolina: Prefeitura Municipal: Anais... Embrapa Semiárido, 2008.

CHAND, R.; SHINGH, P.N.; SINGH, R. Copper and streptomycin resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. *Jornal of Plant Disease Protection* v.101,p. 487- 491, 1994.

CONEXÃO TOCANTINS. Fruticultores do Manoel Alves colhem 230 toneladas de manga e expansão continua em 2017. Disponível em: Acesso em: 10 de Setembro de 2017.

ROCHA, FRANCISCA DE OLIVEIRA. SECAGEM DE POLPA DE MANGA (*Mangifera indica*, L.) CV. PALMER EM SPRAYDRYER: CONDIÇÕES DE SECAGEM E ESTABILIDADE. 2017. 160 p. Dissertação (CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS)- UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, FORTALEZA, 2017. Disponível em: . Acesso em: 06 nov. 2018.

EMBRAPA Semiárido, Instruções Técnicas. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO MANEJO DA MANCHA ANGULAR (*Xanthomonas campestris* pv. *Mangiferae indica*) NA PRODUÇÃO INTEGRADA DE MANGA. Petrolina, outubro de 2005.

FERREIRA, Priscila. Mangas no Brasil. 01/2010. Disponível em: . Acesso em: 01 dez. 2017.

FONSECA, M. G. BIOATIVIDADE DE EXTRATOS DE FUNGOS DA ANTÁRTICA NO COMBATE A BACTERIOSES DA MANDIOCA, TOMATE E PIMENTÃO CAUSADAS POR *Xanthomonas* spp. 2018. 78 p. Dissertação (Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada))- Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2018. Disponível em: . Acesso em: 03 out. 2018.

FURBINO, L. E.; GODINHO, V. M.; SANTIAGO, I. F.; PELLIZARI, F. M.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; JUNIOR, P. A. S.; ROMANHA, A. J.; CARVALHO, A. G. O.; GIL, L. H. V. G.; ROSA, C. A.; MINNIS, A. M.; ROSA, L. H. Diversity patterns, ecology and biological activities of fungal communities associated with the endemic macroalgae across the Antarctic Peninsula. *Microbial ecology*, v. 67, n. 4, p. 775-787, 2014.

HENRÍQUEZ, M.; VERGARA, K.; NORAMBUENA, J.; BEIZA, A.; MAZA, F.; UBILLA, P.; ARAYA, I.; CHÁVEZ, R.; SAN-MARTÍN, A.; DARIAS, J.; DARIAS, M. J.; VACA, I. Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential. *World journal of microbiology and biotechnology*, v. 30, n. 1, p. 65-76, 2014.

LAPEYRE DE BELLAIRE, L. de & MOURICHON, X. The biology of *Colletotrichum musae* (Berk. et Curt.) Arx and its relation to control of banana anthracnose. *Acta Horticulturae*, 490:287-303. 2000.

MARQUES, E. Variabilidade e tolerância ao cobre em *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* agente causal do cancro bacteriano da videira *Vitis* spp. Dissertação de Mestrado. Brasília DF. Universidade de Brasília 2007.

NASCIMENTO, A. R. P.; MARIANO, R. DE L. R.; Cancro bacteriano da videira: etiologia, epidemiologia e medidas de controle. *Ciência Rural*, v.34, n.1, p.301- 307, 2004.

PURIĆ, J.; VIEIRA, G.; CAVALCA, L. B.; SETTE, L. D.; FERREIRA, H.; VIEIRA, M. L. C.; SASS, D. C. Activity of Antarctic fungi extracts against phytopathogenic bacteria. Letters in applied microbiology, v. 66, n. 6, p. 530-536, 2018.

ROSSETTO, C.J.; GALLO, P.B.; BORTOLETTO, N.; CARVALHO, C.R.L.; RIBEIRO, I.J.A.; CASTRO, J.V. Manga IAC Espada Vermelha. In: DONADIO, L. C. (Ed.) Novas variedades brasileiras de frutas. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000, 205p.

ROBBS, C. F.; PONTE, J. J. ; SALES, M. G. Nota sobre *Xanthomonas mangiferae* no Nordeste do Brasil. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 3, n. 2, p. 215-217, 1978.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, M. L.L.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. Ciência Rural, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008

RIBEIRO, I J A; Doenças da Magueira (*Mangifera indica* L.) Manual de fitopatologia, volume 2. Doença das plantas cultivadas. Quarta edição. Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz. São Paulo, 1997.

NASCIMENTO, A.R.P.; AGUIAR. I.F.; SILVA, V.A.V; CASTRO, G.S.S.; PAZ, C.D.. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv *vitícola* em porta-enxertos de videiras. Fitopatologia Brasileira 25:326.2000.

SILVA, I D da.; TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, M R da.; CUNHA, M G da.; Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. Pesquisa Agropecuária Tropical, v.35, n 2, p. 109-115, 2005.

VIEIRA, G.; PURIĆ, J.; MORÃO, L. G.; SANTOS, J. A.; INFORSATO, F. J.; SETTE, L. D.; FERREIRA, H.; SASS, D. C. Terrestrial and marine Antarctic fungi extracts active against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Letters in Applied Microbiology, 2018.

ZAMBOLIM, LAÉRCIO.; JUNQUEIRA, NILTON T. V. Manejo integrado de doenças da mangueira. 2013, p.389.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs oils from Algeria. Food Chemistry, v. 129, n, 1, p. 179-182, 2011

Capítulo 4:

Artigo submetido na revista EMIRATES JOURNAL OF FOOD AND AGRICULTURE com o qualis B1 para alimentos – ISSN 2079-052X

Alternative methods for angular stain control in mangoes (*Mangifera indica* L.)

Mirelle Ribeiro Araújo¹ Geovanka Marcelle Aguiar Leão¹ Eskálath Morganna Silva Ferreira¹

Joenes Mucci Peluzio² Raphael Sanzio Pimenta¹ and Juliana Fonseca Moreira da Silva¹

¹ General and Applied Microbiology Laboratory, Federal University of Tocantins, Palmas, Tocantins, Brazil. E-mail: julianafmsilva@uft.edu.br

² Agricultural Research Laboratory, Federal University of Tocantins, Palmas, Tocantins, Brazil.

ABSTRACT

Normally, the control of angular stain control is performed by chemical methods, however the use of these products can cause high environmental impact and damage to consumer health if it is used in large quantities and undiluted and applied correctly. Based on this problem, this work aimed to evaluate *in vitro* alternative forms of control using *Saccharomyces yeast* (with probiotic potential), ethanolic extracts of *Mauritia flexuosa* (Buriti) and *Miconia albicans* (Cinnamon-old) plants and GRAS substances. To evaluate four GRAS substances in angular leaf spot control caused by *Xanthomonas campestris* pv. *Mangiferae indicae*, during the postharvest period in mangoes. *In vitro* results using antagonistic yeast showed no inhibitory effect against *X. campestris*. However, the extracts of the plants *Miconia albicans* and *Mauritia flexuosa* showed a significant inhibition. Thus, as two GRAS substances, 1%, 1.5% and 3% sodium carbonate and 3% sodium bicarbonate inhibited *X. campestris* growth 100%. The plant extracts and the GRAS substances tested were effective in controlling this phytopathogenic bacteria and proved to be an alternative in controlling angular leaf spot, thus avoiding economic losses during the mango postharvest phase.

Keywords: GRAS Substances, *Miconia albicans*, *Mauritia flexuosa*, Postharvest, *Xanthomonas campestris*.

INTRODUCTION

Brazil is the world's seventh largest mango producer, second only to India, China, Thailand, Indonesia, Mexico and Pakistan (Fao, 2018). According to Palmieri (2018), Brazil in 2018 harvested about 57 thousand hectares of mango, where the largest production is concentrated in the regions: Northeast (73%) and Southeast (27%).

Mango is appreciated worldwide for its color and taste as well as its nutritional value. The fruit is rich in carotenoids, vitamin C, phenolic compounds, minerals, soluble fibers and has high antioxidant activity (Tonin et al., 2018). Although much appreciated for its nutritional and sensory aspects, it is highly perishable and requires care for its conservation and commercialization (Bezerra et al., 2010). About 30% of its production is lost during the storage process before reaching the end consumer (Xavier et al., 2009).

Angular spot is one of the main postharvest diseases that cause losses during this phase. It is caused by the bacteria *Xanthomonas campestris* PV *mangiferaeindicae*, being a disease that attacks branches, leaves, inflorescences and fruits of the hose, usually in prolonged humid periods. The symptoms in the fruits are dark lesions with yellowish halo and soggy tissue. The penetration of the bacteria occurs in the fruit through lesions and natural openings. Environmental conditions such as high temperature and humidity are favorable conditions for the disease, as well as strong winds for causing damage to the fruits (Batista and Barbosa, 2008).

The main control measures for this disease include use of resistant cultivars, crop treatments during the cultivation period, use of pesticides as copper-based compounds. However, these measures have limited effectiveness, with only a few commercially available products and the additional issue that copper compounds are toxic and affect the environment (Spago et al., 2014).

Thus, there is a global trend towards safer and more environmentally friendly alternative approaches to controlling postharvest diseases (Dukare et al., 2018). Among these strategies there is the use of biological control, natural antimicrobial substances and the application of Generally Recognized As Safe (GRAS) substances has been studied and good results have been demonstrated (Spadaro and Droby, 2016).

Biological control using yeasts is a promising and efficient strategy for postharvest fruit control, based on some special advantages, such as: yeasts have fast colonization and are tolerant or compatible with abiotic stress generated by chemicals and pesticides. Besides these microorganisms are naturally present on the fruit surfaces (Ferreira et al., 2018; Spadaro and Droby 2016; Hu et al., 2017 and Wisniewski et al., 2016).

Other studies have been developed and directed to the discovery of new antimicrobial agents from plant extracts and other natural products, aiming to discover compounds with activity compared to those traditionally used, but with lower toxicity, lower environmental impact and greater efficacy against the resistance of phytopathogenic microorganisms (Bonn et al., 2014). For Medeiros et al. (2013), the use of plant extracts that have direct antimicrobial action is a promising alternative for pesticide substitution, besides being an ecologically correct attitude and fitting in the integrated management of plant diseases.

The use of GRAS substance may be another viable control alternative, these chemical compounds may have antimicrobial effects and are used as food additives and are considered safe for human consumption. In addition to being used in combination with biological agents, helping biocontrol agents in their antagonistic action in diseases associated with fruits (Ferreira et al., 2018; Palou et al., 2016; Geng et al., 2011; Pimenta et al., 2010).

Given the above the objective of this work was to propose alternative methods to control the angular leaf spot caused by *Xanthomonas campestris in vitro*, using biological

control through yeast, natural antimicrobial substances obtained from plants and application of GRAS substances.

MATERIAL AND METHODS

The experimental work was carried out at the General and Applied Microbiology Laboratory of the Federal University of Tocantins, at Palmas Campus (TO), Brazil.

Obtainments of microorganisms

The *Xanthomonas campestris* PV *mangiferaeindicae* bacteria was kindly provided by the Laboratory of Biotechnology, Food and Product Analysis of Gurupi Tocantins State UFT/TO, Brazil.

S. cerevisiae yeasts UFT 186, UFT 5978 and UFT 5918 were obtained from the Carlos Augusto Rosa microbial culture collection from the General and Applied Microbiology of the Federal University of Tocantins - UFT, Brazil.

Microorganisms inoculum

Xanthomonas campestris pv. *Mangiferaeindicae*

X. campestris was reactivated in plates containing YMA medium (1% glucose, 0.5% peptone, 0.3% malt extract, 2% agar, 0.3% yeast extract) and incubated for up to 72h at 37°C. After this period the bacteria were replicated to the YM broth and incubated under the same growth conditions previously described (Silveira et al., 2001 with modifications). Subsequently, Gram staining was performed to observe the purity of the culture (Silva, 2013).

To obtain biomass, *X. campestris* was grown in 100 mL YM broth at 37°C for up to 48h. After growth period was added to the fermenter (SOLAB) containing 3L of YM broth, rotating at 150 rpm, at 37°C for 48 h to obtain bacterial biomass.

After obtaining the biomass the bacterial cell concentration was adjusted to 1.5×10^6 cells/mL in 5mL of 0.85% saline. This adjustment was made comparing with the Mac farland Scale (0.5 corresponding to 1.5×10^8 CFU/ml) and further diluted to such concentration above.

Saccharomyces cerevisiae yeasts

The strains *S. cerevisiae* UFT-186, *S. cerevisiae* UFT-5978, and *S. cerevisiae* UFT-5918 yeasts were grown in a petri dish containing YMA medium plus chloramphenicol 100 mg/L for 48h at 35°C. After this period, a loop was taken from each colony and transferred to new plates containing the same culture medium and stored under the same growth conditions to obtain biomass. Subsequently, the plates containing the yeast biomass were scraped off and added into a falcon tube containing 5 mL of 0.85% saline. To calculate the amount of cells, a Neubauer Chamber was used and the concentration was adjusted to 1.5×10^8 cells / mL (Silva, 2013).

Obtaining extracts of the plants *Miconia albicans* and *Mauritia flexuosa*

For plant identification, exsiccates of each species were obtained and deposited in the Tocantins Herbarium (HTO) located at the NEAMB (Center for Environmental Studies), Federal University of Tocantins, National Harbor Campus, under the following registry numbers HTO 10.952 *Mauritia flexuosa* (Buriti) and HTO 12017 *Miconia albicans* (Old Cinnamon).

The ethanolic extracts were obtained from the leaves, where they were separated and cut into smaller pieces with the aid of a sterilized stainless steel knife. The selected leaves were dried in a circulating oven at 40 to 45°C for 48h. After cooling, the material was ground in a domestic processor and the samples stored in sterile bags under refrigeration (Oliveira et al., 2016).

To obtain the crude extracts, the Soxhlet apparatus was used, which weighed about 10 to 20 grams of the dried leaves and ground in a precision analytical balance and placed in two

cellulose cartridges with 250 mL of ethyl alcohol (98 °GL). Upon completion of the process the solvent was removed by rotary evaporation at reduced pressure and a temperature of 50°C (Oliveira et al., 2016). The extracts obtained were stored in sterile vials and placed in a hood until completely evaporated, then sealed and stored under refrigeration.

Verification of growth inhibition of *Xanthomonas campestris* pv. *Mangiferaeindicae* using antagonistic yeasts.

Agar diffusion test

Pairing Test

After reactivation and adjustment of antagonist concentrations, paired cultures were tested to verify the antagonistic potential of yeasts against *X. campestris* by observing the inhibition zone (Christensen, 1996 apud Souza, 2016 with adaptations). The experiment was divided into two types of treatment: Treatment 1: (viable yeast) and Treatment 2: (inactivated yeast).

In treatment 1, antagonist yeasts were streak inoculated on one side of the petri dish then the plates were incubated for 48h at 35°C. The bacteria were then streak-inoculated on the opposite side of the petri dish and incubated at 35°C for 48h. After the incubation period the inhibition of the bacteria by diffusible compounds produced by the yeast was evaluated.

For treatment 2 the yeasts were inoculated on one side of the petri dish and incubated as above, following growth the chloroform vapor inactivation was performed for 30 min. On the opposite side of the plate, the previously prepared bacterial solution was then inoculated and adjusted to a concentration of 1.5×10^6 cells/mL. After inoculation the plates were incubated again at 35°C for an additional 48h in anaerobic environment (Silva, 2013).

The positive control consisted only of yeast in culture medium without the presence of bacteria and the negative control only the phytopathogenic bacteria. The treatments were performed in triplicate and compared with the positive and negative control.

Diffusion test for "spot"

To perform this test, the recommendations set forth in the CLSI (Clinical Laboratory Standards Manuals Institute)/ANVISA (National Health Surveillance Agency) standards were amended. This experiment was divided into two types of treatments, treatment 1: (viable yeast) and treatment 2: (inactivated yeast). For treatment 1, after adjusting the cellular concentration of the microorganisms, the suspensions were sown according to the methodology proposed by Souza (2016) where the antagonists were spread with a sterile swab and then inoculated. 50 μ L of *X. campestris* was placed in the center of the plate, after this procedure the plates were incubated at 35°C for 48h.

For treatment 2, antagonists were spread throughout the petri dish and incubated at 35°C for 48h. After culture growth, antagonists were inactivated. Then the *X. campestris* bacteria was inoculated as a spot (50 μ L of the solution containing cell concentration of 1.5×10^6 CFU/mL) and the plates were incubated for an additional 48h at 35°C in an anaerobic environment. Positive control consisted only of antagonists and negative only *X. campestris* inoculated in culture medium. This test was performed in triplicate and the average diameter of the halos presented was calculated at the end.

Verification of *X. campestris* inhibition by *Miconia albicans* and *Mauritia flexuosa* extracts.

Antimicrobial assays were performed in triplicate by the diffusion method (Clsi, 2009) per well in petri dishes containing 50 mL of YMA agar medium for bacteria. Inoculum solutions were prepared and adjusted. As a negative control, 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) solution was used, and 10 μ g/mL of copper sulfate solutions for positive control.

Using sterile Swab, the solutions containing the inoculum containing *X. campestris* were sown on the surface of the plates containing YMA culture medium and then 5 mm diameter wells were drilled. These wells were filled with 50 μ L of each ethanolic extract obtained from *M. albicans* and *M. flexuosa* diluted in 10% DMSO at concentrations (200, 100

and 50 mg/mL) and with positive and negative controls. After 48h of incubation at 37°C the pathogen inhibition halos were measured using a digital caliper (Oliveira et al., 2017).

The results of the experiments were conducted in a completely randomized design with two replications per triplicate treatment. The averages of the halos obtained were subjected to analysis of variance and compared to each other using Tukey tests at 5% of significance. Statistical analysis was performed using AgroEstat-System for Statistical Analysis of Agronomic Testing (Barbosa and Maldonado junior, 2015).

Verification of inhibition of *X. campestris* by GRAS substances

Four substances listed by the Food and Drug Administration FDA (1999) were selected for the study: sodium bicarbonate, sodium carbonate, calcium carbonate and potassium chloride. These substances were used in the study because they are already used as food additives and studies have already shown their possible fungistatic and fungicidal effects (Janisiewicz and Conway, 2010).

X. Campestris was previously reactivated in YMA culture medium and incubated at 37°C for about 48h. Petri dishes containing YMA culture medium supplemented with 1, 3 and 5% of each substance were prepared for the test, except potassium chloride whose concentration was 0.1%, 0.5% and 1%. This is due to the establishment of the maximum limit of supplementation of this substance in foods that is up to 1% (FDA, 1999).

After the growth period, cell concentration adjustment was performed obtaining about 1.5×10^8 CFU/mL⁻¹ (CLSI, 2003). It was then inoculated with a sterile swab on plates containing YMA medium plus GRAS at the indicated concentrations. As a positive control, the bacteria were inoculated with a swab in YMA plates without the presence of GRAS substances. The negative control consisted only of plaques with the substances without the inoculum of the bacteria. The plates were incubated in anaerobiosis at 37°C for a period of 48

h. *X. Campestris* growth was evaluated and compared with the positive control during the incubation period; each assay was performed from three replicates.

RESULTS AND DISCUSSION

Agar diffusion test

Pairing test and diffusion test for spot

In order to verify the production of antagonist substances by paired culture and spot diffusion, the two tests were not efficient to inhibiting *X. Campestris* development, either treatments 1: (viable yeasts) or treatment 2: (inactivated yeast).

The results obtained from paired culture and spot diffusion tests showed that the yeast did not have any antagonistic potential *in vitro* against the bacterium *X. campestris*. After these experiments it was concluded that these yeasts did not present desirable characteristics as biocontrollers for this pathogen.

In the literature, no methodology similar to that used in this study was found, based on the use of antagonist yeasts to control *X. campestris*. Only similar studies were found for the control of *filamentous fungi*. Like the study developed by Yinsheng (2016) that obtained similar results using *S. cerevisiae* UFT-186, *S. cerevisiae* UFT-5978 and *S. cerevisiae* UFT-5918 yeasts for the control of *P. roqueforti* growth by the diffusion test. By spotting that viable yeasts did not control fungal growth when compared to the positive control, only less sporulation and change in fungal color was observed, assuming that there was a competition for space between the yeast and the fungus studied. In the treatment using inactivated yeasts, no significant difference was observed in relation to the control, when comparing the color and the growth of the pathogen.

Silva (2013) used *S. boulardii* and *S. cerevisiae* yeasts to verify the antifungal capacity on *Aspergillus parasiticus* growth, and observed that viable yeasts were able to reduce 46.3% and 45.8% respectively compared to control. Inactivated yeasts decreased by 24.9% and 22.6%. This inhibition was not observed in this experiment.

Verification of inhibition of *X. campestris* using extract of the plants *Miconia albicans* and *Mauritia flexuosa*

In order to verify the phytopathogen inhibition, a well diffusion test was performed using the ethanolic extracts of the leaves of the plants *M. albicans* (Old Cinnamon) and *M. flexuosa* (Buriti). The results of the tests are shown in figures 1 and 2. The analysis of variance showed a significant effect on the control of *X. campestris* growth in relation to plant extracts of the studied species and the concentrations analyzed when compared to the positive control. As the interaction was significant, we proceeded to the results (Table 1).

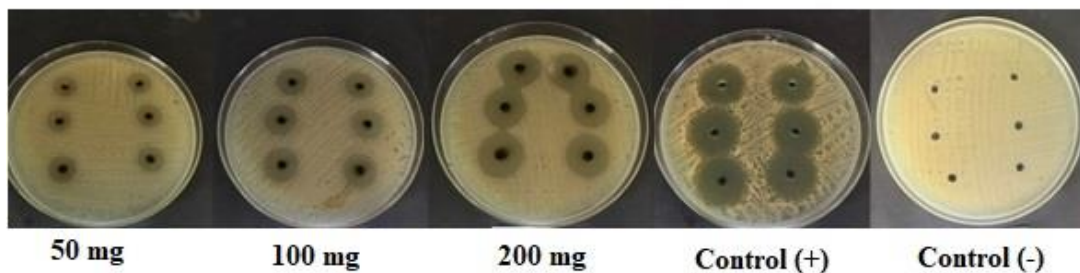


Figure 1. Growth inhibition of *X. campestris* in YMA medium with *Mauritian flexuosa* ethanolic extract at 50, 100, 200 mg/mL concentrations, and positive and negative controls, the plates were incubated at 37°C for 48 hours in anaerobiosis.

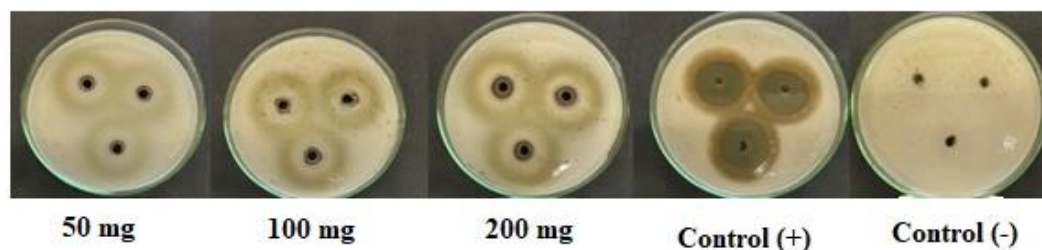


Figure 2. Growth inhibition of phytopathogen *Xanthomonas campestris* in YMA medium in ethanolic extract of *Miconia albicans* at concentrations of 50, 100, 200 mg/mL, and positive and negative controls, the plates were incubated at 37 °C for 48 hours in anaerobiosis.

Table 1. *X. campestris* inhibition by the ethanolic extracts of *Mauritia flexuosa* and *Miconia albicans*

EXTRACT (mg/L)	50 (mg)	100 (mg)	200 (mg)	C+
<i>M. flexuosa</i>	13.2 mm ^{bB}	17.8 mm ^{aB}	24.1 mm ^{aA}	26.3 mm ^{aA}
<i>M. albicans</i>	17.1 mm ^{aC}	19.9 mm ^{aBC}	22.6 mm ^{aB}	

* Means followed by the same lowercase letter in the column and uppercase in the row do not differ statistically at 5% significance by Tukey test.

The comparison of inhibition halo from ethanolic extracts of *Mauritia flexuosa* and *Miconia albicans* over the pathogen *X. campestris* shows that the 200 mg/L extract of *M. flexuosa* obtained statistical differences in comparison with the others extracts concentrations and was effective as the positive control. The *M. albicans* extract at 200 mg/L obtained similar results to 100 mg/L, but none concentrations was similar to positive control (Table 1). With this, we suppose that the ethanolic extract of *M. flexuosa* at 200 mg/L showed the best result to growth inhibition of *X. campestris*.

Studies by Kalpana et al. (2016) when testing four leaf extracts of *Euphorbia heterophylla* (wild peanut) and *Tamilnadia uliginosa* revealed that *in vitro* antibacterial tests showed that the extracts significantly inhibited the growth of *X. axonopodis* pv. *cit.* The best result was obtained for *Tamilnadia uliginosa* Retz ethanolic extract at 1,000 ppm showed an inhibition zone 74% over *X. campestris* pv. *citri*.

Vieira (2018) by extracting fungi from *Antarctic algae* produced 66 extracts, which were performed antimicrobial tests against three species of *Xanthomonas*, the author observed that 18 extracts had significant inhibitory activity in at least one of the species of *Xanthomonas* to which it was tested. Among the 18 extracts, 9 were positive against *X. euvesicatoria*, 9 were positive against *X. axonopodis* pv. *passiflorae* and 16 showed activity against *X. citri* subsp. *citri*, all with inhibition greater than or equal to 90% *in vitro*.

According to Palou et al. (2016) extracts obtained from medicinal or exotic plants from Africa, Asia or South American countries such as Brazil are compounds that may have antimicrobial activity and also some ability to retard maturation and prolong the life of fruit shelf and other treated products. Typically, these compounds are secondary metabolism products produced by the plant for its own protection against pests and pathogens and have been used for their significant activities against the most important phytopathogens for postharvest disease control (Ruiz et al., 2016; Nicosia et al., 2016; Obagwu and Korsten, 2003; Mekbib et al., 2009 and Barrera Necha et al., 2003).

Verification of inhibition of phyto bacteria *X. campestris* for GRAS substances

The sensitivity test for GRAS substances (sodium bicarbonate, sodium carbonate, calcium carbonate and potassium chloride) showed that sodium bicarbonate at 3% and sodium

carbonate at 1%, 1.5% and 3% were able to inhibit *X. campestris* growth by 100% (Figure 3). The other GRAS substances tested did not achieve satisfactory bacterial growth reduction.

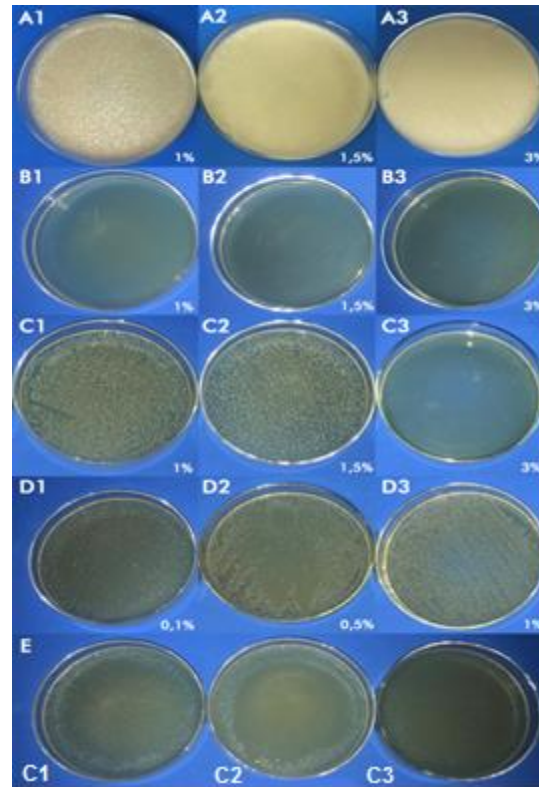


Figure 7. Effect of GRAS substances at different concentrations on growth of *Xanthomonas campestris* after 48 h incubation at 37°C. (A1, A2, A3) Calcium carbonate and their concentrations (1%, 1.5% and 3%); (B1, B2, B3) Sodium carbonate and their concentrations (1%, 1.5% and 3%); (C1, C2, C3) Sodium bicarbonate and their concentrations (1%, 1.5% and 3%); (D1, D2, D3) Potassium chloride and their concentrations (0.1%, 0.5% and 1%) and (E1, E2, E3) Positive control.

No similar research was found using GRAS substances to control *Xanthomonas* or any other bacterial species. However, the literature shows the same substances being used to control other microorganisms. Like the research developed by Yinsheng (2016), in which the author tested *P. roqueforti* fungus for growth sensitivity in medium containing GRAS substances, and observed that sodium bicarbonate and sodium carbonate inhibited 100%

growth of *P. roqueforti* at concentrations of 1%, 3% and 5%, similar results to those presented in this paper.

Ferreira et al. (2018) also analyzed the susceptibility of *Colletotrichum gloeosporioides* to GRAS substances (sodium carbonate, calcium carbonate, sodium bicarbonate, calcium chloride, potassium chloride), and observed that only carbonate and sodium bicarbonate were able to significantly inhibit phytopathogen growth at all concentrations tested. On the other hand, calcium chloride, calcium carbonate and potassium chloride did not inhibit fungal growth at any of the evaluated concentrations, corroborating the results obtained in this work and demonstrating that these substances have antimicrobial power.

Sodium bicarbonate and sodium carbonate showed good efficiency in controlling growth *X. Campestris*, being sodium carbonate effective in all concentrations used. However, sodium bicarbonate proved to be the best strategy for the control of *X. campestris*, as it is already a substance studied for the control of several phytopathogenic fungi and has the purpose of increasing the fruit preservation period, besides being easily accessible and inexpensive when compared to other GRAS substances (Bru et al., 2013; Lai et al., 2015; Fallanaj et al., 2016).

Alternative methods for reducing postharvest diseases such as biological control, GRAS substances and plant extracts that have antimicrobial properties have been evaluated against several important postharvest fruit pathogens in temperate, subtropical and tropical climate (Palou et al., 2016). With this research work, it was possible to identify probable antimicrobial compounds with potential for the development of non-polluting chemical alternatives suitable for use in the control of angular spot caused by *X. campestris* in mangoes.

CONCLUSION

Yeasts evaluated as antagonists were not efficient in controlling *X. campestris*. However, the extracts of the plants *Miconia albicans* and *Mauritia flexuosa* showed good control efficiency, and the extract obtained from *M. flexuosa* presented the best results. Regarding the GRAS substances applied, only sodium carbonate and sodium bicarbonate were able to inhibit *X. campestris*. Sodium carbonate obtained results in the three concentrations tested and sodium bicarbonate only in the highest concentration (3%). The results obtained from *Miconia albicans* and *Mauritia flexuosa* plant extracts and GRAS substances showed promise in controlling the angular leaf spot produced by *X. campestris*. However, more studies need to be performed to elucidate the mechanisms of action of these substances.

REFERENCES

- Barbosa, J.C. and Maldonado Júnior, W. 2015. Agronomic Experimentation & Agro-Stat System for Statistical Analysis of Agronomic Assays. Jaboticabal: Multipress.
- Batista, D. C., Barbosa and M. A. G. 2008. Doenças da mangueira. In: simpósio internacional de vitivinicultura, 1.; feira nacional da agricultura irrigada - fenagri, Minicursos. Petrolina: Prefeitura Municipal: Anais. Embrapa Semiárido.
- Barrera-Necha, L. L., Bautista-Baños, S., Garcia-Dominguez, E., Reyes-Chilpa, R. and Wilson, C. L. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. Postharvest biology and technology, 29(1), 81-92.

- Bezerra, T. S., Costa, J. M. C., Afonso, M. R. A., Maia, G. A. & Rocha, E. M. F. F. (2010). Hygroscopic behavior of mango powder of coité and espada cultivar and evaluation of physicochemical characteristics. *Ciência Rural*, v. 40, n. 10, p. 2186–2192.
- Di Venere, M., Boyd-Moss, M., Baratchi, S., and Khoshmanesh, K. 2016. Self-contained microfluidic systems: a review. *Lab on a Chip*, 16(17), 3177-3192.
- Bonn, E. A. M., Pinto, F. D. S., Fruet, T. K., Jorge, T. C. M. and Moura, A. D. 2014. Comparison of methods for antimicrobial activity evaluation and determination of the minimum inhibitory concentration (cim) of aqueous and ethanolic plant extracts. *Biological Institute Archives*, 81 (3), 218-225.
- Bru L., V., Obszynski, C. M., Samsoen, M., Sabou, M., Waller, J. and Candolfi, E. 2013. Antifungal activity of sodium bicarbonate against fungal agents causing superficial infections. *Mycopathologia*, 175(1-2), 153-158.
- Clsi, E. A. 2003. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach. Approved Guideline, CLSI.
- Clsi. Manual Clinical and laboratory Standards Insitute/NCCLS. 2009. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: approved standards M11-A8. Wayne, Pa.
- Dukare, A. S., Paul, S., Nambi, V. E., Gupta, R. K., Singh, R., Sharma, K., & Vishwakarma, R. K. (2019). Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(9), 1498-1513.
- Fallanaj, F., Ippolito, A., Ligorio, A., Garganese, F., Zavanella, C. and Sanzani, S. M. 2016. Electrolyzed sodium bicarbonate inhibits *Penicillium digitatum* and induces defence

responses against green mould in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 115, 18-29.

Food and agriculture organization of the united nations (FAO). 2018. FAOTSTAT. Retrieved April 15, 2019 from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.

Fda. 1999. FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. Federal Register. Rules and Regulations v. 64, n. 246.

Ferreira, E. M. S., Malta, C. M., Bicalho, J. O. and Pimenta, R. S. (2018). A safe method to control the anthracnose in papaya. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(3).

Geng, P., Chen, S., Hu, M., Rizwan-ul-Haq, M., Lai, K., Qu, F. and Zhang, Y. (2011). Combination of *Kluyveromyces marxianus* and sodium bicarbonate for controlling green mold of citrus fruit. *International journal of food microbiology*, 151(2), 190-194.

Janisiewicz, W. J. and Conway, W. S. 2010. Combining biological control with physical and chemical treatments to control fruit decay after harvest. *Stewart Postharvest Review*, 6(1), 1-16.

Jansen, A. M., Scheffer J. J. C. and Baerheim, S. A. 1987. Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species, *Pharmazie*, v. 45, p. 70.

Kalpana, B. and Prakash, M. 2016. Antibacterial activity of leaf extracts of *Euphorbia heterophylla* L. and *Tamilnadia uliginosa* (Retz.) Tirveng. & Sastre against *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. *Int.J.Curr.Res.Biosci.Plantbiol.* 3(1): 135-138 .

Lai, T., Bai, X., Wang, Y., Zhou, J., Shi, N. and Zhou, T. 2015. Inhibitory effect of exogenous sodium bicarbonate on development and pathogenicity of postharvest disease *Penicillium expansum*. *Scientia Horticulturae*, 187, 108-114.

Medeiros, F. J.G., Neto, A., Costa, A., from Costa Menezes, N. P. and do Nascimento, L. C. 2013. Sanity and germination of *Clitoria fairchildiana* seeds treated with plant extracts. *Brazilian Journal of Forest Research*, 33 (76).

Mekbib, F., Bjoslash, A., Sperling, L. and Synnevaring, G. 2009. Factors shaping on-farm genetic resources of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in the centre of diversity, Ethiopia. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 1(2), 045-059.

Nicosia, M. G. L. D., Pangallo, S., Raphael, G., Romeo, F. V., Strano, M. C., Rapisarda, P. and Schena, L. 2016. Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract. *Postharvest Biology and Technology*, 114, 54-61.

Obagwu, J., & Korsten, L. (2003). Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1), 187-194.

Oliveira, A. I. T. D., Mahmoud, T. S., Nascimento, G. N. L. D., Silva, J. F. M. D., Pimenta, R. S., & Morais, P. B. D. (2016). Chemical composition and antimicrobial potential of palm leaf extracts from babaçu (*Attalea speciosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), and macaúba (*Acrocomia aculeata*). *The Scientific World Journal*, 2016.

Oliveira, A. I. T., Cabral, J. B., Mahmoud, T. S., do Nascimento, G. N. L., da Silva, J. F. M., Pimenta, R. S., & de MORAIS, P. B. (2017). In vitro antimicrobial activity and fatty acid composition through gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of ethanol extracts of *Mauritia flexuosa* (Buriti) fruits. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(40), 635-641

.Palmieri, F. G. 2018. Analysis of mango production in Brazil and abroad, and market prospects. Paper presented at the 27th National Fair of Irrigated Agriculture (FENAGRI). Juazeiro / BA.

Palou, L., Ali, A., Fallik, E. and Romanazzi, G. 2016. GRAS, plant-and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 41-52.

Pimenta, R. S., Silva, J. F. M., Coelho, C. M., Morais, P. B., Rosa, C. A. and Corrêa Jr, A. 2010. Integrated control of *Penicillium digitatum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis crataegensis* and sodium bicarbonate on oranges. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(2), 404-410.

Ruiz, S., Moreno, M., Melnick, D., Del Campo, F., Poli, P., Baez, J. C. and Madariaga, R. 2017. Reawakening of large earthquakes in south central Chile: The 2016 Mw 7.6 Chiloé event. *Geophysical Research Letters*, 44(13), 6633-6640.

Silva, J.F.M. 2013. Strategies for Control of Aflatoxins Produced by *Aspergillus parasiticus* in Peanuts (*Arachis hypogaea* L.). Thesis (Doctorate in Microbiology) - Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVEIRA, M., PINTO, G. and RODRIGUES, S. 2010. Study of the effects of cell growth culture media components of *Xanthomonas campestris* NYDA B-10. In Embrapa Tropical Agro-Industry - Article in Congress Proceedings (ALICE). In: BRAZILIAN CHEMICAL ENGINEERING CONGRESS, 18., 2010, Foz do Iguaçu. Anais ... São Paulo: Brazilian Association of Chemical Engineering, 2010. p. 7035-7043.

SOUZA, I. F. de. 2016. Prospecting substances with *Candida albicans* antagonist activity produced by endophytic bacteria from the Amazon region. 78 f. Dissertation (Master in Biotechnology) - Federal University of Amazonas, Manaus,

Spadaro, D., and Droby, S. 2016. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 39-49.

Spago, F. R., Mauro, C. I., Oliveira, A. G., Beranger, J. P. O., Cely, M. V. T., Stanganelli, M. M., and Andrade, G. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* produces secondary metabolites that have biological activity against plant pathogenic *Xanthomonas* species. *Crop Protection*, 62, 46-54.

Tonin, I. P., Ferrari, C. C., Silva, M. G. da., Oliveira, K. L. de., Berto, M. I., Silva, V. M. da and Germer, S. P. M. 2018. Performance of different process additives on the properties of mango powder obtained by drum drying. *Drying Technology*, v. 36, p. 355-365.

Tortora, G.J .; FUNKE, B.R. and CASE, CL. 2012. *Microbiology*. 10.ed., Porto Alegre: Artmed,. 70 p.

Vieira, G., Purić, J., Morão, L. G., Dos Santos, J. A., Inforsato, F. J., Sette, L. D., and Sass, D. C. 2018. Terrestrial and marine Antarctic fungi extracts active against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Letters in applied microbiology*, 67(1), 64-71.

Vieira, G. Secondary metabolites of Antarctic fungi with antibacterial activity in *Xanthomonas* spp. 2018. Dissertation (Master in Biological Sciences) Paulista State University, 76 f .Rio Claro, SP.

Xavier, I.F., Leite, G.A., Medeiros, E.V., Moraes, P.L.D. and Lima, L.M. 2009. Postharvest Quality of Tommy Atkins Mango Marketed in Different Commercial Establishments in the Municipality of Mossoró-RN. *Caatinga Magazine*, v. 22, no. 4, p. 9-13, Oct.-Dec.

Yinsheng, Xu. Use of *saccharomyces* yeast to control the deterioration of Parmesan cheese. 2016. Dissertation (Master in Food Science and Technology) Federal University of Tocantins, Graduate Program in Food Science and Technology. 72f. Palmas, 2016.